Postverlagsort Berlin

PLANTA

ARCHIV FÜR WISSENSCHAFTLICHE BOTANIK

BEGRÜNDET VON **W. RUHLAND** UND **H. WINKLER**

UNTER MITWIRKUNG VON
J. BONNER-PASADENA, **A. ERNST**-ZÜRICH
H. v. GUTTENBERG-ROSTOCK, **R. HARDER**-GÖTTINGEN, **O. RENNER**-MÜNCHEN
W. RUHLAND-UNTERDEUFSTETTEN, **W. SCHUMACHER**-BONN

HERAUSGEGEBEN VON

L. BRAUNER
MÜNCHEN

E. BÜNNING
TÜBINGEN

52. BAND, 6. (SCHLUSS-)HEFT
MIT 63 TEXTABBILDUNGEN
(ABGESCHLOSSEN AM 12. MÄRZ 1959)

SPRINGER-VERLAG
BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
1959

Planta (Berl.)

Preis DM 26.80

Planta. Archiv für wissenschaftliche Botanik

Begründet 1925. Band 1—34 (1945) herausgegeben von *W. Ruhland* und *H. Winkler*. (Band 1—21, 1934, als „Zeitschrift für wissenschaftliche Biologie", Abteilung E.) Band 35—47. Herausgegeben von *W. Ruhland* und *O. Renner*. Band 48—51. Herausgegeben von *W. Ruhland, L. Brauner* und *E. Bünning*

Die Zeitschrift „Planta", Archiv für wissenschaftliche Botanik, steht in deutscher Sprache oder einer der Kongreßsprachen, sofern sie die Muttersprache des Autors ist, abgefaßten Originalarbeiten aus dem Gesamtgebiet der Botanik, abgesehen von solchen rein systematischen oder floristischen Inhalts, offen.

Arbeiten, welche einen Vermerk des Verfassers „Kurze Mitteilung" tragen, werden sobald wie möglich außerhalb der Reihenfolge des Eingangs abgedruckt. Ihr Umfang darf 4 Druckseiten nicht überschreiten; die Beigabe von Abbildungen ist nur in Ausnahmefällen angängig.

Die Zeitschrift erscheint zur Ermöglichung raschester Veröffentlichung zwanglos in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle DM 40.— für eine Arbeit. Für „Kurze Mitteilungen" wird ein Unkostenersatz nicht erstattet.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme, Mikrophotographien u. ä. von den Zeitschriftenheften, von einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit bis auf weiteres zusammen 75 Sonderdrucke unentgeltlich.

Aufnahmebedingungen siehe 3. Umschlagseite.

Alle Manuskripte und Anfragen sind zu richten an

Professor Dr. Leo Brauner, München 19, Menzingerstr. 67, Botanisches Institut der Universität, oder an

Professor Dr. Erwin Bünning, Tübingen, Botanisches Institut der Universität, Wilhelmstraße 5.

Springer-Verlag

Berlin-Wilmersdorf, Heidelberger Platz 3, Fernsprecher 83 03 01

und

Heidelberg, Neuenheimer Landstr. 28—30, Fernsprecher 2790 1

52. Band **Inhaltsverzeichnis** 6. (Schluß-)Heft

Seite

Ziegler, H., Über die Zusammensetzung des „Bestäubungstropfens" und den Mechanismus seiner Sekretion. Mit 7 Textabbildungen 587

Poelt, J., Eine Basidiolichene in den Hochalpen. Mit 5 Textabbildungen 600

Tschermak-Woess, E., Extreme Anisogamie und ein bemerkenswerter Fall der Geschlechtsbestimmung bei einer neuen *Chlamydomonas*-Art. Mit 8 Textabbildungen 606

Reinert, J., und E. Forstmann, Untersuchungen über das Auxin der Maiskoleoptile. Mit 2 Textabbildungen 623

Pankow, H., und H. v. Guttenberg, Studien über die Anlage der Achselknospen und Blattprimordien bei Gramineen. Mit 20 Textabbildungen . . 629

Schnepf, E., Untersuchungen über Darstellung und Bau der Ektodesmen und ihre Beeinflußbarkeit durch stoffliche Faktoren. Mit 21 Textabbildungen 644

Autorenverzeichnis 709

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Planta, Bd. 52, S. 587—599 (1959)

Aus dem Forstbotanischen Institut München

ÜBER DIE ZUSAMMENSETZUNG DES „BESTÄUBUNGSTROPFENS" UND DEN MECHANISMUS SEINER SEKRETION*

Von

HUBERT ZIEGLER

Mit 7 Textabbildungen

(Eingegangen am 6. November 1958)

A. Einleitung

Auch bei den Gymnospermen liegt die Samenanlage nur in Ausnahmefällen so frei, daß der bestäubende Pollen ohne weiteres aufgefangen werden kann. Das ist z. B. bei *Saxegothaea* (NORÉN 1908, TISON 1910, LOOBY u. DOYLE 1939) und bei *Araucaria* (SCHACHT 1859, STRASBURGER 1872, BURLINGAME 1914) der Fall, wo der Nucellusscheitel das Integument durchwächst und mit Hilfe eines Sekretes die Pollen unmittelbar festhält. Im allgemeinen ist aber der Nucellus von einem Integument umgeben, das über der Nucellusspitze zu einer mehr oder weniger langen, offenen, gelegentlich gewundenen Röhre ausgezogen ist; die Gymnospermen sind „angio-nucellés" oder „angio-sporangiés" (MARTENS 1956). Diesen Engpaß der Integumentröhre hat der Pollen auf seinem Weg zu den Samenanlagen zu passieren.

Bedenkt man, daß z. B. bei *Ephedra helvetica* dieser Kanal etwa 1,3 mm lang und gewunden ist und sein Durchmesser an engen Stellen nur etwa 55 μ beträgt, die Maße des Pollens sich aber auf $40 \times 33\,\mu$, nach Abwerfen der Exine und Quellung — in Wasser — sogar auf $80 \times 30\,\mu$ belaufen, so wird verständlich, warum auch die meisten „Nacktsamer" einen speziellen Auffangmechanismus für den Pollen entwickelt haben.

Als eine derartige „funktionelle Narbe" dient bekanntlich der Bestäubungstropfen, der zur Zeit der Bestäubung durch die Mikropyle ausgeschieden wird. Er wurde zuerst bei *Taxus* und *Juniperus* von VAUCHER (1841) entdeckt und seither bei zahlreichen anderen Gattungen *(Cupressus, Chamaecyparis, Thuja, Biota, Thujopsis, Libocedrus, Cephalotaxus, Sciadopitys, Sequoia, Cryptomeria, Gingko, Podocarpus, Dioon, Zamia, Ephedra, Welwitschia, Gnetum)* von vielen Autoren (unter anderen DELPINO 1870, 1890; STRASBURGER 1871, 1872; KARSTEN 1892; JACCARD 1894; WEBBER 1901; PEARSON 1906; KIRCHNER, LOEW und SCHRÖTER 1908; CHAMBERLAIN 1909; PORSCH 1910; TISON 1910).

* Herrn Prof. Dr. O. STOCKER zum 70. Geburtstag in Verehrung und Dankbarkeit gewidmet.

Unsicher ist bisher das Vorhandensein eines Bestäubungstropfens bei den Pinaceen; während STRASBURGER (1872, S. 267) für *Pinus pumilio* und *P. sylvestris* angibt, daß die „Zangenmikropyle" (GOEBEL 1932) reichlich Flüssigkeit sezerniert, in der sich die herangeführten Pollen fingen, und DELPINO (1890) für alle Gymnospermen Bestäubungstropfen annimmt, weist SCHNARF (1923) darauf hin, „daß für keinen einzigen Vertreter der Familie die Ausbildung eines Bestäubungstropfens sichergestellt ist".

Mit der chemischen Analyse der Bestäubungstropfen beschäftigten sich SCHUMANN (1902) und FUJI (1903); beide arbeiteten mit *Taxus baccata*. Während SCHUMANN infolge des negativen Ausfalls der Probe mit Fehlingscher Lösung (auch nach Invertierung mit verdünnter H_2SO_4) „mit Sicherheit" die Abwesenheit von reduzierenden Zuckern und von Rohrzucker feststellte, erhielt FUJI eine positive Reaktion mit Fehlingscher Lösung und ebenso nach der Böttcherschen, Nylanderschen und Barfoedschen Glucosebestimmungsmethode und hält deshalb das Vorhandensein von Glucose für wahrscheinlich, wenn auch nicht für sicher.

Aus der Rötung von blauem Lackmuspapier schließen beide Autoren auf die Anwesenheit einer freien Säure, die SCHUMANN ohne Begründung „mit einiger Wahrscheinlichkeit" für Äpfelsäure hält. Da der Tropfen mit Naphthol-Schwefelsäure eine Violettfärbung ergab und bei Verdunsten einen klaren Rückstand hinterließ, schließt SCHUMANN auf einen Pflanzenschleim, FUJI auf eine Art Gummi. Der letztgenannte Autor konnte schließlich noch zweifelsfrei Calcium „in irgendeiner Verbindung" und eine stark reduzierende Substanz unbekannter Art nachweisen.

Die Bestäubungstropfen von *Gnetum*arten (KARSTEN 1892) und von *Ephedra campylopoda* (PORSCH 1910) sind wegen des lebhaften Ameisenbesuches zuckerverdächtig, die *Gnetum*tropfen schmecken zudem süß.

Ebenfalls nicht endgültig geklärt sind Ort und Mechanismus der Tropfenabscheidung. Während die Mehrzahl der Autoren die Nucellusspitze für das Sekretionsgewebe hält, schreibt SCHUMANN bei *Taxus* der Mikropyle diese Funktion zu, vor allem deshalb, weil er während der Zeit der Tropfenbildung „keine Spur von Flüssigkeit" im Binnenraum der Samenanlage (über dem Nucellus-Scheitel) fand. Zumeist wird eine echte Sekretion durch drüsenartige Gewebe (mit großen Kernen und dichtem Plasma) angenommen.

Wir haben nun versucht, die Kenntnis der chemischen Zusammensetzung einiger Bestäubungstropfen und der Art ihrer Abscheidung zu erweitern.

B. Material und Methoden

Hauptuntersuchungsobjekte waren *Taxus baccata* L. (aus dem Forstbotanischen Garten Grafrath und dem Botanischen Garten München-Nymphenburg) und *Ephedra helvetica* C. A. MEY. (aus der Walliser Felsenheide bei Sitten, Schweiz).

Zur Klärung der Frage nach dem Vorhandensein eines Bestäubungstropfens bei Pinaceen wurden *Picea excelsa* Lk. und *Larix leptolepis* Gord. (beide aus Grafrath) herangezogen.

Während bei *Taxus* im Freien reichlich Tropfen gebildet werden, ist dies bei *Ephedra helvetica* auf dem erwähnten Fundort keineswegs der Fall, wie schon Jaccard feststellen mußte; der Verzehr durch die stets vorhandenen Ameisen läßt offenbar die Ausbildung sichtbarer Tropfen nicht zu. Erst, als wir die Pflanzen im Zimmer kultivierten (Wurzeln in Wasser), erhielten wir eine recht lebhafte Abscheidung (Abb. 1). Abgenommen wurden die Tropfen jeweils mit Glascapillaren.

Die Zucker, Aminosäuren und organischen Säuren wurden qualitativ papierchromatographisch identifiziert, und zwar auf Whatmann Nr. 1-Papier. Für die Zucker diente dabei Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:5) als (absteigendes) Laufmittel, Anilinphthalat, Benzidin-Trichloressigsäure und Naphthoresorcin-Trichloressigsäure als Entwickler, für die Aminosäuren Phenol (p_H 12) in der einen und Butanol-Eisessig-Wasser in der zweiten Richtung eines zweidimensionalen Chromatogramms als Trennlösungen, Ninhydrin als Entwickler, für die organischen Säuren Äthylacetat-Ameisensäure-Wasser (100:30:30; nach Heitefuss 1954) als (aufsteigendes) Laufmittel und Anilin-Glucose-n-Butanol-Äthanol-Wasser (2:2:60:20:20) als Entwickler.

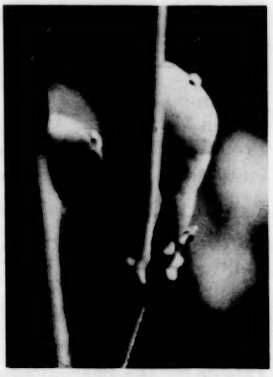


Abb. 1. Bestäubungstropfen von *Ephedra helvetica* (Abzug von Agfacolor-Umkehrfilm). Vergr. etwa 7:1

Die Peptide wurden mit 20%iger HCl im zugeschmolzenen Glasröhrchen hydrolysiert (25 Std bei 105° C), die Säure im Vakuum-Exsiccator in feste KOH absorbiert, der Rückstand mit Wasser aufgenommen und chromatographiert. Die Hydrolyse der Zucker erfolgte mit 3%iger H_2SO_4 im Wasserbad.

Die quantitative Bestimmung der reduzierenden Zucker wurde nach der Wallenfelsschen Methode der Tetrazoliumreduktion (nach Peach u. Tracey 1955), die des Rohrzuckers refraktometrisch und durch Ermittlung der Differenz des Reduktionsvermögens nach und vor der Inversion durchgeführt. Als Maß für die Gesamtmenge der Aminosäuren und Amide diente die quantitative Ninhydrinreaktion (vgl. Ziegler 1956).

Auf Äpfelsäure wurde zusätzlich mit β-Naphthol und Schwefelsäure (Feigl 1954; S. 259), auf Citronensäure mit der Citrazinatreaktion (Feigl; S. 261) getestet.

Die Phosphatfraktionen wurden in der üblichen Weise differenziert (vgl. Ziegler 1956) und photometrisch nach Martland u. Robison (1926) bestimmt.

Da von den *Taxus*tropfen insgesamt nur 0,5 ml (etwa 8000 Tropfen), von *Ephedra* nur etwa 0,05 ml zur Verfügung standen, mußte sehr sparsam gearbeitet werden. Die quantitativen Analysen konnten deshalb nur einmalig, ohne die normalerweise durchzuführenden Kontrollmessungen, durchgeführt werden. Bei der Beurteilung ihrer Genauigkeit ist dies zu berücksichtigen.

Die Atmungsmessung erfolgte manometrisch bei 25° C. Die Objekte befanden sich auf puffergetränktem (m/60 Phosphatpuffer p_H 6,6) Filtrierpapier; die Absorption des Cyanids durch die Absorptionslauge in den entsprechenden Vergiftungsversuchen wurde nach der Vorschrift von Krebs (1935) verhindert.

Beim histochemischen Nachweis der sauren Phosphatase folgten wir den Angaben von Glick (1949); in den Kontrollen wurde das Ferment mit $^1/_{50}$ molarem KF gehemmt.

C. Ergebnisse

I. Die Zusammensetzung der Tropfen

1. Taxus baccata. *a) Trockengewicht.* Der Anteil des Trockengewichts am Gesamtgewicht im Bestäubungstropfen von *Taxus baccata* schwankt stark in Abhängigkeit von der relativen Luftfeuchtigkeit. Im wasserdampfgesättigten Raum (Blüten in Petri-Schalen auf feuchtem Filtrierpapier) bestimmten wir 5,55% (Probe von 170 Tropfen) und 7,6% (150 Tropfen), im Freien zwischen 10 und 18% (Mittel um 13%).

Tabelle 1. *Art und relative Mengen (Fleckenvergleich) der freien Aminosäuren im Bestäubungstropfen von Taxus baccata*

Glutaminsäure	+++++
Alanin	++++
Prolin	++++
Glutamin	+++
Asparaginsäure	++
Lysin	+
Tryptophan	+
Valin	+
Leucin	Sp.
Serin	Sp.

b) Zucker. An Zuckern ließen sich Saccharose, Glucose und Fructose nachweisen; der Gesamtanteil am Trockengewicht beträgt zwischen 70 und 81% (Mittel aller Serien 77,5%), ist also sehr erheblich. Das Gewichtsverhältnis Saccharose : freie Hexosen lag bei den einzelnen Serien verschieden. Während wir 1956 einen Wert von 1:1,54 erhielten, betrug er 1958 bei einer Probe 1:2,8 und bei einer zweiten 1:3.

Tabelle 2. *Die relative Menge der Aminosäuren im Hydrolysat des Peptids (der Peptide) im Bestäubungstropfen von Taxus baccata*

Glutaminsäure	++++
Alanin	++
Lysin	+
Asparaginsäure	+
Valin	Sp.
Leucin	Sp.

Bei einer Gesamtzuckerkonzentration von 10% und einem Verhältnis Saccharose : Hexosen wie 1:3 — einem Richtwert für die natürlichen Verhältnisse — stellt der *Taxus*tropfen demnach eine etwa 0,07 molare Saccharose-, eine 0,4 molare Hexosen- und eine 0,47 molare Gesamtzuckerlösung dar. MÜLLER-STOLL (1948) hatte bei Keimungsversuchen gefunden, daß die *Taxus*-pollen in Saccharosekonzentrationen zwischen 0,05 und 0,75 Mol/Liter keimen, am willigsten bei den schwächsten Konzentrationen (0,05, 0,1, 0,2 mol); wenn auch ein Gemisch von Saccharose mit freien Hexosen keimungsphysiologisch anders wirken mag als eine reine Saccharoselösung, so kann doch gesagt werden, daß der Zuckergehalt im Bestäubungstropfen osmotisch dem experimentell ermittelten günstigen Keimungsbereich entspricht.

c) Phosphat. Der Gehalt an anorganischem Phosphat lag mit 860 γ/ml (entspricht einer etwa 0,009 molaren Lösung) ungefähr in der Größenordnung der von uns früher analysierten Siebröhrensäfte, aber weit höher als in den bisher untersuchten Nektarproben (vgl. ZIEGLER 1956). Im Gegensatz zu den Siebröhrensäften und zum Nektar ist im Bestäubungstropfen von *Taxus* auch leichthydrolysierbares (7 min)

Phosphat vorhanden, und zwar 290 γ/ml. Schwerhydrolysierbares Phosphat fand sich in einer Konzentration von 85 γ/ml.

d) Aminosäuren und Peptide. Die quantitative Ninhydrinreaktion ergab eine Extinktion, die derjenigen von 3,4 mg Leucin/ml entsprach, also ebenfalls wieder derjenigen in den Siebröhrensäften gleicht, die der Nektarproben aber weit übertrifft. Diese relativ hohe Konzentration erlaubte denn auch trotz der geringen Gesamtsubstanzmenge eine Identifizierung der einzelnen Aminosäuren und deren relativer Menge (Tabelle 1).

Neben den freien Aminosäuren fand sich noch ein Peptid (oder mehrere Peptide desselben R_f-Wertes), dessen Hydrolyse 6 Aminosäuren ergab (Tabelle 2).

e) Organische Säuren. Chromatographisch und mittels der spot tests ließen sich Äpfelsäure und Citronensäure identifizieren.

f) Vergleich mit der Zusammensetzung des Nucellusgewebes. Aufschlußreich für ein Verständnis des Abscheidungsmechanismus und eine Beurteilung der Sekretionsleistung ist vielfach die Kenntnis der Konzentrations- bzw. Filtrationsarbeit, für die ein Vergleich der Stoffkonzentrationen im Abscheidungsgewebe und im Sekret, in unserem Falle im Nucellus (+ Integument, das sich nicht ohne weitgehende Verletzung von Nucellus trennen läßt) und im Bestäubungstropfen, Anhaltspunkte liefern kann.

Tabelle 3 gibt einen Überblick über die gefundenen Werte.

Tabelle 3. *Vergleich der Zusammensetzung des Bestäubungstropfens und des Nucellus (+ Integument) — gemittelt aus 100 Nucelli — von Taxus baccata*

	Bestäubungstropfen		Nucellus	
	1 Tropfen γ	mg/ml Wasser	1 Nucellus γ	mg/ml Wasser
Frischgewicht	68		420	
Wasser	59		275	
Trockengewicht	9	153	145	527
Gesamtzucker	6,25	106	23	84
Saccharose	1,55	26	8	29
Hexosen	4,70	80	15	55
Ninhydrinpositive Substanzen (umgerechnet auf Leucin)	0,2	3,4	1,1	4
Anorg. Phosphat	0,06	0,97	0,6	2,2
7 min-Phosphat	0,02	0,32	0,25	0,9
Schwerhydr. Phosphat	0,006	0,097	0,02	0,07

Zunächst fällt auf, daß im Tropfen die Konzentration der ninhydrinpositiven Substanzen und der verschiedenen Phosphatfraktionen (wie auch der Anteil des Trockengewichts am Gesamtgewicht) niedriger, die des Gesamtzuckers aber höher ist als im Nucellus. Beim Zucker liegt also zunächst der Verdacht einer aktiven Sekretion nahe.

Wenn sich innerhalb der Zucker- und Phosphatfraktionen Verschiebungen zeigen in der Richtung, daß im Bestäubungstropfen Saccharose und leichthydrolysierbares Phosphat relativ abnehmen zugunsten freier Hexosen und von anorganischem Phosphat, so deutet dies auf die Wirksamkeit einer Invertase und einer Phosphatase im Abscheidungsgewebe und (oder) im Saft selber hin.

Abb. 2. Histochemischer Nachweis der saueren Phosphatase in der weiblichen Blüte (Längsschnitt) von *Taxus baccata*. Aktive Gewebe schwarz. Vergr. 30:1

Tabelle 4. *Art und relative Menge (Fleckenvergleich) der freien Aminosäuren im Bestäubungstropfen von Ephedra helvetica*

Glutamin	+++++
Glutaminsäure . .	++++
Threonin	++
Alanin	++
Methionin	++
Valin	+
Tyrosin	+
Glykokoll	+

Die (sauere) Phosphatase läßt sich im Nucellus histochemisch nachweisen (Abbildung 2); sie ist aber im Nucellusscheitel nicht aktiv. Das Ferment ist vielleicht auch bei der Freisetzung der Saccharose aus Saccharosephosphat bei der Rohrzuckersynthese (vgl. LELOIR u. CARDINI 1953) beteiligt, spaltet aber bemerkenswerterweise nicht alles Esterphosphat, so daß ansehnliche Mengen in den Tropfen gelangen können.

2. Ephedra helvetica. Entsprechend den wesentlich geringeren verfügbaren Substanzmengen konnte die Analyse des *Ephedra*-Bestäubungstropfens nicht so weit geführt werden wie bei *Taxus*.

a) Zucker. Als einziger freier Zucker fand sich Saccharose, und zwar in einer Konzentration von etwa 25%.

b) Phosphat. Es wurde nur das Gesamtphosphat bestimmt: Auf 1 g Saccharose treffen 17 mg Phosphat, also etwas mehr als bei *Taxus*, wo auf 1 g Gesamtzucker etwa 13 mg Phosphat kamen.

Auch bei *Ephedra* läßt sich eine aktive sauere Phosphatase histochemisch, und zwar hier speziell im Nucellusscheitel, nachweisen

(Abb. 3); es dürften demnach die Esterphosphate ebenfalls wenigstens teilweise gespalten werden.

c) Aminosäuren. Die Extinktion des Bestäubungstropfens in der Ninhydrinreaktion entsprach einer Leucinkonzentration von 28 γ/mg Zucker, also etwa der des *Taxus*tropfens (32 γ/mg Zucker). Auch hier war eine Analyse der einzelnen Aminosäuren möglich (Tabelle 4).

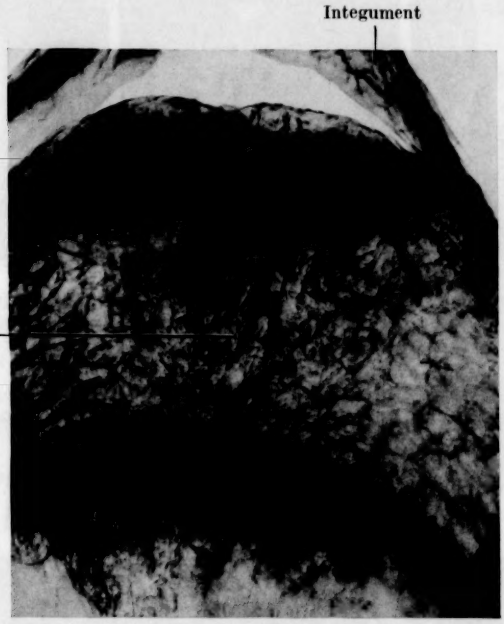


Abb. 3. Histochemischer Nachweis der saueren Phosphatase im Nucellus (Längsschnitt) von *Ephedra helvetica*. Aktives Gewebe schwarz. Vergr. 130:1

Die Peptidfraktion ergab nach der Hydrolyse Cystin, Lysin, Arginin, Asparaginsäure, Serin, Glykokoll, Glutaminsäure, Threonin, Alanin, Valin und Leucin.

II. Die Abscheidung des Bestäubungstropfens

Beim Vergleich der Konzentrationen im Nucellus und im Bestäubungstropfen von *Taxus* hatten wir gesehen, daß der Gehalt des Zuckers im Tropfen höher, der des Gesamtphosphats und der ninhydrinpositiven Substanzen niedriger liegt als im Nucellus. Man könnte demnach zunächst an ähnliche Verhältnisse denken, wie wir sie bei Nektarien gefunden haben (Ziegler 1956), wobei nur die „Filtrierung" (bzw. der Grad der Rückresorption) der Stickstoff- und Phosphatfraktionen im Falle des Bestäubungstropfens weit schwächer wäre.

Handelt es sich bei der Abscheidung des Bestäubungstropfens tatsächlich — wie beim Nektar — um eine aktive Sekretion, die einen

a b c

Abb. 4a—c. Bestäubungstropfen von *Taxus baccata* nach Aufenthalt der Organe in feuchter Kammer. a Weibliche Blüte. Vergr. 12:1. b Isolierter Nucellus (+ Integument). Vergr. 12:1. c Isolierter Nucellus (+ Integument) nach Amputation der Mikropyle. Vergr. 13:1

Energieaufwand erfordert und daher eine intakte Atmung zur Voraussetzung hat?

Unser Befund, wonach die isolierten weiblichen Blüten (Abb. 4a), ja sogar der freigelegte Nucellus (+ Integument, Abb. 4b) in feuchter

Abb. 5. Bestäubungstropfen von *Picea excelsa* (nach Verweilen der Fruchtschuppen in feuchter Atmosphäre). Vergr. 8,5:1

Kammer den Bestäubungstropfen bilden, erlaubte eine Klärung dieser Frage. Es ergab sich, daß die Nucelli die Abscheidung auch auf Medien (Agar oder puffergetränktem Filtrierpapier) fortsetzten, die $^1/_{50}$ molare KF- oder KCN-Lösungen enthielten, Giftkonzentrationen, die im

Warburg-Versuch die Atmung dieser Gewebe vollständig hemmten. Bei Abnahme der Tropfen von der Mikropyle wurden sie in den vergifteten Ansätzen ebenso mehrfach wieder gebildet wie in den normalen.

Die Abscheidung des *Taxus*bestäubungstropfens ist demnach kein aktiver, stoffwechselabhängiger Vorgang und insofern von der Nektarsekretion grundsätzlich verschieden. Es ist deshalb müßig, nach typischen Drüsenzellen als Orten der Sekretion zu suchen, wie dies meist getan wurde.

Auch bezüglich der Lokalisierung des Abscheidungsgewebes ließ sich bei *Taxus* leicht ein Entscheid fällen: Da nach Amputation der Mikropylarmündung, die nach SCHUMANN den Tropfen bilden soll, die Abscheidung weitergeht (Abb. 4c), kann nur der Nucellusscheitel dafür verantwortlich sein, wie dies aus anderen — allerdings nicht zwingenden — Gründen auch verschiedentlich (vgl. FUJI 1903, TISON 1910, SCHNARF 1933) schon angenommen wurde.

Abb. 6. Bestäubungstropfen von *Larix leptolepis* (nach Verweilen der Fruchtschuppen in feuchter Atmosphäre). Vergr. 8,5:1

Die äußersten Zellen dieses Nucellusscheitels sind nun bei *Taxus* (und den übrigen Bestäubungstropfen bildenden Gymnospermen) zur Zeit der Bestäubung aufgelöst (vgl. Abb. 2 und 3) — wie bereits STRASBURGER (1872) feststellte —, und diese Freigabe des Zellinhaltes aus dem Verband des Symplasten ist offenbar die Ursache für die Entstehung des Tropfens: Das osmotisch wirksame Material saugt Wasser an — sei es aus dem Nucellusgewebe oder aus der Atmosphäre —, und die entstandene Lösung tritt durch den Mikropylarkanal und dessen Mündung, die durch Cutinüberzüge isoliert sind, ins Freie. Dieser Vorgang ist rein physikalisch bedingt und deshalb durch Stoffwechselgifte nicht zu hemmen.

III. Zur Frage des Bestäubungstropfens der Pinaceen

Wie bereits erwähnt, wurde bei den Pinaceen noch in keinem Falle ein Bestäubungstropfen wirklich nachgewiesen; mit seinem Fehlen soll eventuell die besondere Ausgestaltung der Mikropyle („Zangenmikropyle") zusammenhängen (SCHNARF).

Auch wir konnten beim Zerlegen der Zapfen von *Picea* und *Larix* keine Tropfen oder Wasserfilme zwischen den „Mikropylarzangen" finden. In wasserdampfgesättigter Atmosphäre aber zeigten die iso-

lierten Fruchtschuppen eine lebhafte, nach Abnahme der Tropfen mehrfach erneuerte Tropfenbildung über die Mikropyle (Abb. 5 und 6).

Es bedarf weiterer Untersuchungen um klarzustellen, ob unter natürlichen Bedingungen von der — prinzipiell vorhandenen — Möglichkeit der Tropfenabscheidung Gebrauch gemacht wird bzw. werden kann (im wesentlichen dürfte dies eine Frage der Luftfeuchtigkeit im Innern der Zapfen zur Zeit der Bestäubung sein), und welche Stoffe sich in den Pinaceentropfen finden[1].

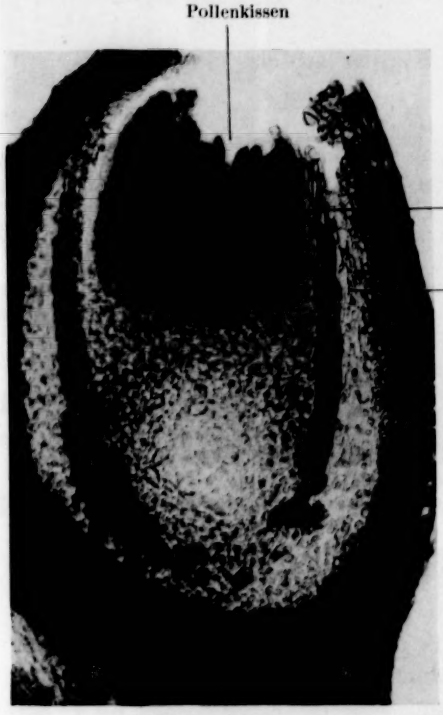


Abb. 7. „Stärkeherd" im Nucellus von *Picea excelsa* (Längsschnitt; nach Reaktion mit Jodjodkali). Vergr. 60:1

Bemerkenswerterweise findet sich im Nucellus von *Picea* ein ähnlicher „Stärkeherd", wie er von CHURCH (1914) für *Welwitschia mirabilis* beschrieben wurde (Abb. 7); nach CHURCH soll die Stärke als Vorrat für die Ernährung der Pollenschläuche in Betracht kommen.

D. Diskussion

Wir haben gesehen, daß der Bestäubungstropfen von *Taxus* (und vermutlich auch die der übrigen Gymnospermen) den verdünnten Inhalt einiger aufgelöster Nucelluszellen darstellt. Man sollte also erwarten, daß sich im Bestäubungstropfen dieselben Stoffe wie im Nucellus, nur in gleichmäßig verringerter Konzentration, vorfänden. Das Stoffinventar — soweit erfaßt — stimmte bei *Taxus* im Bestäubungstropfen und im Nucellus überein, doch zeigten sich im Tropfen die Stickstoff- und Phosphatfraktion verringert, die Konzentration des Gesamtzuckers erhöht. Es dürfte dies darauf zurückzuführen sein, daß bei den Nucellusanalysen nicht nur die Gewebe der Nucellusspitze, sondern auch — und überwiegend — andere (übriger Nucellus, Integument) erfaßt werden, deren Zellsaft andere, beim Zucker vermutlich geringere, Stoffkonzen-

[1] Diese Untersuchungen wurden Mitte Mai (1958) durchgeführt, zu einem Zeitpunkt, in dem die Bestäubungszeit schon zu Ende ging und nicht mehr ausreichend Material gesammelt werden konnte.

trationen besitzt. Die Gesamtzuckerkonzentration im Zellsaft der aufgelösten Zellen könnte dann — ebenso wie der Stickstoff- und Phosphatgehalt — diejenige im Bestäubungstropfen übertreffen.

Die erhebliche Konzentration osmotisch wirksamen Materials im Bestäubungstropfen verringert den Dampfdruck des Wassers und verzögert die Verdunstung, hat also einen für die Funktion als „flüssige Narbe" günstigen Effekt. Der Zucker speziell (vielleicht auch andere Substanzen) wirkt günstig auf die Keimung der Pollen und kann im Sonderfall (*Ephedra campylopoda*; PORSCH 1910) zur Anlockung der tierischen Bestäuber dienen.

Während bei den aufrechten, „uranotropen" ♀ Blüten (z. B. *Ephedra*, *Juniperus*) der Pollen infolge seines höheren spezifischen Gewichtes in den Bestäubungstropfen nach unten sinkt und so auf den Nucellusscheitel gelangt, wird er bei den hängenden, „geotropen" ♀ Blüten (z. B. *Taxus*) erst beim Eintrocknen des Tropfens (verursacht wahrscheinlich durch Versiegen der Wassernachfuhr aus dem Nucellus) durch die Integumentröhre nach innen gezogen.

Bemerkenswerterweise finden sich im Bestäubungstropfen von *Taxus* alle die Stoffe, die bei den Archegoniaten als wirksame Chemotactica für die Spermatozoiden nachgewiesen sind: Rohrzucker (Chemotacticum bei Laubmoosen, PFEFFER 1884), Citronensäure (*Lycopodium*, BRUCHMANN 1909), Äpfelsäure (*Filicines*, *Selaginella*, PFEFFER 1884; *Equisetum*, SHIBATA 1905a, b, 1911, LIDFORSS 1905a; *Isoetes*, SHIBATA 1905d, 1911; *Salvinia*, SHIBATA 1905c, 1911) und Protein (*Marchantia*, LIDFORSS 1905b). Es darf in diesem Zusammenhang daran erinnert werden, daß — entgegen der landläufigen Darstellung — diese spezifischen Chemotactica noch in keinem einzigen Falle in den Archegonienausscheidungen nachgewiesen wurden; es wurde stets die spezifische Empfindlichkeit der reagierenden Spermatozoiden getestet. Wir vermuten, daß auch bei den Archegoniaten nicht etwa die Zusammensetzung des Archegoniumsekretes — das ja gewöhnlich aus dem Inhalt der aufgelösten Halskanalzellen besteht, ganz ähnlich wie der Bestäubungstropfen aus dem von Nucelluszellen —, sondern nur die chemotaktische Reizbarkeit der Spermatozoiden gruppenspezifisch ist. Wir werden diese Frage prüfen.

Zusammenfassung der Ergebnisse

1. Der Bestäubungstropfen von *Taxus baccata* enthält an Zuckern Saccharose, Glucose und Fructose; die Konzentration der Aminosäuren (10 frei und 6 in einem oder mehreren Peptiden gebunden) und des Phosphats ist relativ hoch (etwa in der Größenordnung der bisher analysierten Siebröhrensäfte). Äpfelsäure und Citronensäure sind nachweisbar.

2. Im Bestäubungstropfen von *Ephedra helvetica* findet sich als einziger Zucker Saccharose; auch hier ist die Konzentration der Amino-

säuren (8 frei und 12 in einem oder mehreren Peptiden) und des Phosphats hoch.

3. Der Bestäubungstropfen von *Taxus baccata* wird auch nach völliger Hemmung der Atmung abgeschieden; es handelt sich also dabei nicht um eine aktive Sekretion. Eine Beteiligung der Mikropyle an der Abscheidung konnte ausgeschlossen werden.

4. Im wasserdampfgesättigten Raum zeigen auch Pinaceen (*Picea excelsa* und *Larix leptolepis*) einen Tropfenaustritt aus der Mikropyle; ob dieser auch unter natürlichen Bedingungen eine Rolle spielt, bleibt zu klären.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft bin ich für vielfältige Unterstützung (unter anderem ein Reisestipendium) zu Dank verpflichtet; Fräulein GERTRAUD DREISBUSCH danke ich für ihre Mitarbeit.

Literatur

BRUCHMANN, H.: Von der Chemotaxis der *Lycopodium*-Spermatozoiden. Flora (Jena) **99**, 193—202 (1909). — BURLINGAME, L. L.: The morphology of *Araucaria Brasiliensis*. II. The ovulate cone and female gametophyte. Bot. Gaz. **57**, 490—508 (1914). — CHAMBERLAIN, CH. J.: Spermatogenesis in *Dioon edule*. Bot. Gaz. **47**, 215—236 (1909). — CHURCH, A. H.: On the floral mechanism of *Welwitschia mirabilis* (HOOKER). Phil. Trans. B **205**, 115—151 (1914). — DELPINO, F.: Ulteriori osservazioni sulla dicogamia nel regno vegetale. Atti Soc. ital. Sci. natur. **2** (1870). — Note ed osservazioni botaniche. Malpighia **4**, 3—33 (1890). FEIGL, F.: Spot Tests. II. Organic applications. Amsterdam-Houston-London-New York: Elsevier Publ. Comp. 1954. — FUJI, K.: Über den Bestäubungstropfen der Gymnospermen. Ber. dtsch. bot. Ges. **21**, 211—217 (1903). — GLICK, D.: Techniques of histo- and cytochemistry. New York and London: Interscience Publ. 1949. — GOEBEL, K. v.: Organographie der Pflanzen, 3. Aufl., Bd. 3. Jena: Gustav Fischer 1932. — HEITEFUSS, R.: Erfahrungen zur quantitativen papierchromatographischen Bestimmung von organischen Säuren. Angew. Bot. **31**, 61—62 (1957). — JACCARD, P.: Recherches embryologiques sur l'*Ephedra helvetica*. Bull. Soc. vaudoise Sci. natur. **30**, 46—84 (1894). — KARSTEN, G.: Beitrag zur Entwicklungsgeschichte einiger *Gnetum*-Arten. Bot. Ztg. **50**, 205—215, 221—231, 237—346 (1892). — KIRCHNER, O. v., E. LOEW u. C. SCHRÖTER: Lebensgeschichte der Blütenpflanzen Mitteleuropas, Bd. 1, Abt. 1. Stuttgart: Eugen Ulmer 1908. — KREBS, H. A.: Metabolism of amino-acids. III. Deamination of amino-acids. Biochem. J. **29**, 1620—1629 (1935). — LELOIR, L. F., and C. E. CARDINI: The biosynthesis of sucrose. J. Amer. chem. Soc. **75**, 6084 (1953). — LIDFORSS, B.: Über die Chemotaxis der *Equisetum*-Spermatozoiden. Ber. dtsch. bot. Ges. **23**, 314—316 (1905a). — Über die Reizbewegungen der *Marchantia*-Spermatozoiden. Jb. wiss. Bot. **41**, 65—87 (1905b). — LOOBY, W. J., and J. DOYLE: The ovule, gametophytes and proembryo in *Saxegothaea*. Sci. Proc. roy. Dublin Soc. **22**, 95 (1939). — MARTENS, P.: Un facteur évolutif négligé: Le bec nucellaire de l'ovule. Rev. gén. Bot. **63**, 529—536 (1956). — MARTLAND, M., and R. ROBINSON: Possible significance of hexosephosphoric esters in ossification. IV. Phosphoric esters in blood plasma. Biochem. J. **20**, 847—855 (1926). — MÜLLER-STOLL, W. R.: Zytomorphologische Studien am Pollen von *Taxus baccata* L. und anderen Koniferen. Planta (Berl.) **35**, 601—641 (1948). — NORÉN, C. O.: Zur Kenntnis der Entwicklung von *Saxegothaea conspicua* LINDL. Svensk bot. T. **2**, 101—122 (1908). — PAECH, K.,

u. M. V. Tracey: Moderne Methoden der Pflanzenanalyse, Bd. 2. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955. — Pearson, H. H. W.: Some observations on *Welwitschia mirabilis* Hooker f. Phil. Trans. B **198**, 265—304 (1906). — Pfeffer, W.: Locomotorische Richtungsbewegungen durch chemische Reize. Untersuchungen aus dem Botanischen Institut zu Tübingen, Bd. 1. Leipzig: Wilhelm Engelmann 1881—1885 (1894). — Porsch, O.: *Ephedra campylopoda* C. A. Mey., eine entomophile Gymnosperme. Ber. dtsch. bot. Ges. **28**, 404—412 (1910). — Schacht, H.: Lehrbuch der Anatomie und Physiologie der Gewächse, Bd. 2. Berlin: G. W. F. Müller 1859. — Schnarf, K.: Embryologie der Gymnospermen. In K. Linsbauers Handbuch der Pflanzenanatomie, II. Abt., 2. Teil. Berlin: Gebrüder Borntträger 1933. — Schumann, K.: Über die weiblichen Blüten der Coniferen. Verh. Bot. Ver. Prov. Brandenburg **44**, 5—80 (1902). — Shibata, K.: Über die Chemotaxis der Spermatozoiden von *Equisetum*. Bot. Mag. (Tokyo) **19**, 79—82 (1905a). — Weitere Mitteilung über die Chemotaxis der *Equisetum*-Spermatozoiden. Bot. Mag. (Tokyo) **19**, 126—130 (1905b). — Studien über die Chemotaxis der *Salvinia*-Spermatozoiden. Bot. Mag. (Tokyo) **19**, 39—42 (1905c). — Studien über die Chemotaxis der *Isoetes*-Spermatozoiden. Jb. wiss. Bot. **41**, 561—610 (1905d). — Untersuchungen über die Chemotaxis der Pteridophyten-Spermatozoiden. Jb. wiss. Bot. **49**, 1—60 (1911). — Strasburger, E.: Die Bestäubung der Gymnospermen. Jena. Z. Med. Naturw. **6**, 249—262 (1871). — Die Coniferen und die Gnetaceen. Leipzig: Ambr. Abel 1872. — Tison, A.: Remarques sur les goutelettes collectrices des ovules des conifères. Mem. Soc. Linn. Normandie (Caen) **24**, 51—66 (1910). — Vaucher, J. P.: Histoire physiologique des plantes d'Europe, ou exposition des phénomenes qu'elles présentent dans diverses périodes de leur développement, Bd. 4. Paris: Libr. de Marc Aurel Frères, Edit. 1841. — Webber, H. J.: Spermatogenesis and fecundation of *Zamia*. U.S. Dept. Agric. Bureau Plant Ind.-Bull. (Wash.) **2**, 1—100 (1901). — Ziegler, H.: Untersuchungen über die Leitung und Sekretion der Assimilate. Planta (Berl.) **47**, 447—500 (1956).

Professor Dr. H. Ziegler,
Botanisches Institut der Techn. Hochschule, Darmstadt, Roßdörferstr. 140

Planta, Bd. 52, S. 600—605 (1959)

Aus der Botanischen Staatssammlung München

EINE BASIDIOLICHENE IN DEN HOCHALPEN

Von

J. POELT

Mit 5 Textabbildungen

(Eingegangen am 24. November 1958)

In fast allen derzeit verbreiteten allgemeinen und speziellen Lehrbüchern werden für die Gruppe der Basidiolichenen nur wenige tropische Gattungen genannt, deren Pilzpartner zum größten Teil zu den Thelephoraceen gehören. Davon machen auch neuere systematische Zusammenstellungen wie bei ABBAYES (S. 161) und TOMASELLI keine Ausnahme. Lediglich MATTICK (1, 127) verweist auf lockere Lichenisierungen auch bei anderen Gruppen. Erst mit den Studien MATTICKs (2) und GEITLERs (1 und 2), die ihre eigenen Beobachtungen und Untersuchungen mit Rückblicken auf ältere, mehr oder weniger übersehene Literatur (z. B. COKER, PALM) verbinden, scheint sich eine Änderung dieser Meinung anzubahnen. Als sicher ist jetzt zumindest anzunehmen, daß sich auch im Kreise der Clavariaceen mehrfach echte, auch morphologisch festdefinierte Lichenisierungen herausgebildet haben, die über die von TOBLER (z. B. loc. cit.) beschriebenen lockeren Verbindungen von Polyporeen mit gewissen Algen biologisch und morphologisch weit hinausgehen. Vor allem durch die Studien GEITLERs wurde der Beweis erbracht, daß es sich bei der Symbiose der auch in Mitteleuropa heimischen, wenngleich seltenen *Clavaria mucida* FR. um eine den Ascolichenen völlig entsprechende Erscheinung handelt. Die Zahl derartiger Fälle ist offenbar in den Tropen ziemlich groß, wie dies auch aus den verschiedenen Angaben über phycophile Species in der neuen Monographie der Clavariaceen von CORNER (1) hervorgeht; genauer untersucht wurden jedoch die wenigsten davon. Für Mitteleuropa schien diesem Werk entsprechend neben der genannten, dort zu *Lentaria nov. gen.* als *Lentaria mucida* (FR.) CORN. überführten *Clavaria mucida* FR. lediglich noch die allerdings nur für Holland und Frankreich angegebene *Clavaria vernalis* SCHW. = *Clavulinopsis vernalis* (SCHW.) CORN. als lichenisierte Art in Frage zu kommen. Auch PILÁT bringt in seiner jüngst erschienenen Monographie der europäischen Clavariaceen keine weiteren Beiträge zu dieser Frage.

Um so überraschender war es für den Verfasser, bei einer Querung der Hohen Tauern in der Glockner- und Granatspitzgruppe zusammen mit Frl. C. MEILHAMER an vier zwischen 2350 und 2650 m Meereshöhe

gelegenen Örtlichkeiten Beständen einer kleinen *Clavaria* zu begegnen, die sofort den Eindruck einer mit Algen in Symbiose lebenden Art erweckte. Die bis um 1 cm hohen, zarten, einfachen oder mehr oder weniger stark geteilten Fruchtkörper (Abb. 1) von etwa rahmweißer Farbe saßen zerstreut in einem ziemlich auffälligen, dicht zusammenhängenden, geglätteten, dunkel- bis schmutziggrünen Überzug, der gelegentlich von Moosen, Flechten oder Sämlingen von Blütenpflanzen bedeckt oder durchbrochen war. Außerhalb dieser grünen Haut, die mit dem unterliegenden Substrat fest verbacken und mit Körnchen von Quarz und anderen Mineralien durchsetzt war, konnten keine Fruchtkörper beobachtet werden.

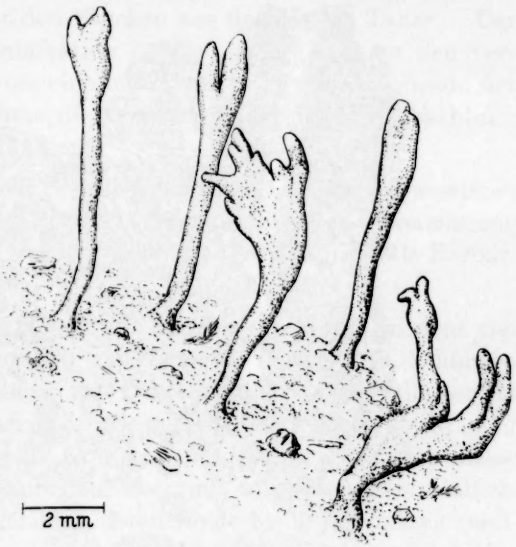


Abb. 1. Mehrere Fruchtkörper von *Clavulinopsis septentrionalis* CORNER

Die 4 Fundorte sind folgende: 1. Glocknergruppe: Osthang des Kleetörls am Krefelder Höhenweg, ± 2300 bis 2350 m. — 2. Granatspitzgruppe: Hänge unter der Muntanitzschneid am Aufstieg Kalser Tauernhaus—Gradezkees, ± 2400 m. — 3. Granatspitzgruppe: unweit westlich der Sudetendeutschen Hütte, 2600—2650 m. — 4. Granatspitzgruppe: Sudetendeutscher Höhenweg, Ostweg am Weißen Knopf, ± 2500 m. — Proben von den Aufsammlungen liegen in der Botanischen Staatssammlung München.

Mit Ausnahme von Fundort 3 handelt es sich hierbei um vom Menschen geschaffene Örtlichkeiten, nämlich um die steilen Böschungen der in den letzten Jahren neu hergerichteten Alpenvereinswege. Auf diesem sandig-erdigen, lockeren Substrat hatte sich die Flechte in kleineren oder größeren Flecken angesiedelt. Die umfangreichste Fläche war an Fundort 1 von ihr besetzt; hier mag sie zusammen etwa 300—400 cm² bedeckt haben. An wichtigeren Begleitern fanden sich auf diesem ausgelaugten und offensichtlich versauerten Boden folgende Arten: lockere Rasen der brutkörpertragenden *Pohlia commutata*, dünne Überzüge des Schneeboden-Lebermooses *Anthelia juratzkana*, zerstreute Triebe von Polytrichaceen, einzelne Sprosse verschiedener kleiner *Hepaticae*, Fruchtkörper einer unbestimmten *Thelephora*.

Fundort 3 war ein kleiner, sehr steiler, unter einem großen Schieferblock gelegener erdiger Abhang, der aller Wahrscheinlichkeit nach

gelegentlich erodiert wurde und so auf natürliche Weise die Bedingungen erfüllte, die an den anderen Plätzen durch den Menschen geschaffen wurden. Das Substrat war auch hier recht sauer. In der näheren Umgebung fanden sich zahlreiche alpine Moose und Flechten.

Aus den geschilderten Verhältnissen dürfte hervorgehen, daß unsere Flechte offensichtlich ein Erstbesiedler neugeschaffener Standorte ist, eine Pionierart von wahrscheinlich raschem Wachstum, aber auch

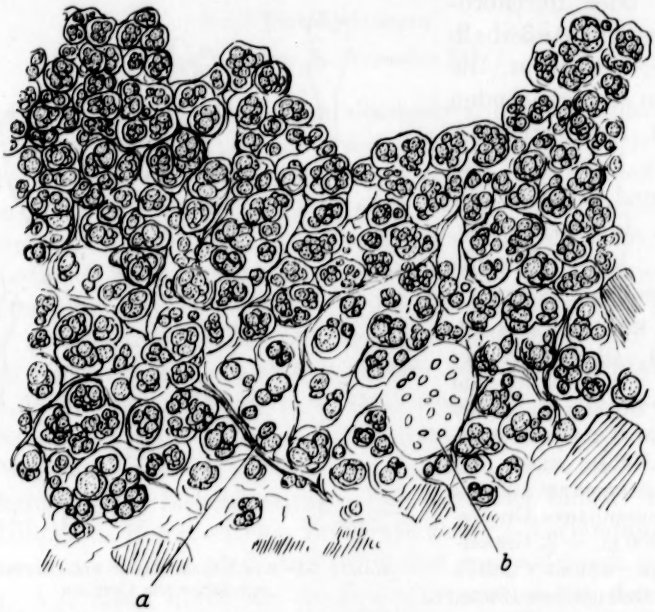


Abb. 2. Schnitt durch einen etwa 200 μ dicken Thallus; die Hyphen sind bei der Vergrößerung einzeln nicht auszumachen; bei *a* ein Hyphenstrang, bei *b* eine Kolonie einer Fremdalge

schnellem Vergehen. Den von Mattick (2) und Palm mitgeteilten Daten nach dürfte das übrigens auch für die tropischen Clavariolichenen gelten.

Es darf angenommen werden, daß die Art in dem genannten Gebiet der Hohen Tauern noch vielfach in natürlicher Vegetation zu finden ist; an Wegrändern ist sie auf den zeitraubenden Hochgebirgswanderungen nur viel leichter zu sehen als anderswo.

Versuche, die Art nach der Cornerschen Monographie wie nach der Pilátschen Arbeit zu bestimmen, schlugen fehl. Verfasser richtete deshalb an den Monographen Prof. Dr. E. J. H. Corner (Cambridge) die Bitte um Bestimmung, die auch prompt erfüllt wurde (wofür Verfasser auch an dieser Stelle seinen besten Dank aussprechen möchte).

"It is *Clavulinopsis septentrionalis* Corner Friesia V (1956) 218. — Your specimens agree exactly with the plate (fig. 1), but the spores are a little longer, 7—8 × 2,5—3,3 μ. I saw many 4-spored basidia and a few

with 6 spores. Undoubtedly this fungus is very near *Clavulinopsis vernalis* (SCHW.) with 2—4spored basidia, longer spores and, usually, simple fruit bodies. Hence, I think *C. septentrionalis* may be only a variety of *C. vernalis*".

Clavulinopsis septentrionalis wurde von CORNER (2) nach Material aus dem nordschwedischen Nadelwaldgebiet beschrieben, wo die Art auf sandiger, offener Erde zwischen Moosen und *Calluna* in Kiefernwäldern an 4 Stellen gesammelt worden war. Beschreibung und Abbildung decken sich gut mit den Stücken aus den Hohen Tauern. Der Autor vermutete bei der Publikation bereits, in Analogie zu den verwandten Arten, daß es sich um eine mit Algen in Symbiose lebende Art handeln müsse — eine Annahme, die Verfasser bei der ersten Beobachtung unabhängig davon in den Sinn kam.

Leider konnten die für den Beweis einer Lichenisierung notwendigen feineren Untersuchungen erst etwa $2^1/_2$ Monate nach der Aufsammlung des Materials unternommen werden, das in der Zwischenzeit als Herbarprobe aufbewahrt worden war.

Die Strukturverhältnisse liegen nun recht ähnlich wie bei dem von GEITLER näher analysierten Fall von *Lentaria mucida*. In Schnitten (Abb. 2) und bei der Herstellung von Quetschpräparaten zerfällt der um 150—300 μ dicke Algenüberzug in kleinste bis sehr große, mehr oder weniger ineinandergeschachtelte Komplexe von Algen. Die Hauptmasse wird von einer *coccomyxa*ähnlichen, aber mit nur schwachen Gallerthüllen versehenen Species gebildet, deren runde bis unregelmäßig rundliche Zellen gewöhnlich bis 6—8 μ Durchmesser erreichen und kleine bis sehr große Fettropfen enthalten. Zwischengelagert finden sich meist kleine Kolonien einer stark scheidigen Cyanophycee, spindelige Grünalgen und einige andere Algen. Diese accessorischen Arten schwimmen im Präparat, soweit es sich nicht um größere Kolonien handelt, frei herum, während die *Coccomyxa*-Komplexe fest zusammenhalten und nur durch stärkeren Druck auf das Deckglas gesprengt werden können. Der Grund liegt in der dichten Umhüllung dieser Algenpakete mit Hyphenhüllen, die allerdings wegen ihrer geringen Breite und starken Verquellung und der hohen Lichtbrechung der Algen zunächst schwer sichtbar sind, aber durch Färbung (z. B. mit wäßriger Toluidinblaulösung; vgl. GEITLER) verdeutlicht werden können. Zur Untersuchung sind vor allem sehr kleine, wenigzellige, von jungen Hyphen umgebene Algengruppen geeignet sowie die Teile der Hyphengruppen, die beim Zerquetschen der Komplexe frei werden. Die Einzelheiten gleichen ebenfalls sehr den bei GEITLER geschilderten Tatsachen.

Die Hyphen der Algenpakete sind, soweit sie der eigentlichen Hülle angehören, nur sehr jung kurzzellig, aber schmal und hochgewölbt; sie

verzweigen sich unregelmäßig (Abb. 3). Im Laufe der Entwicklung wachsen sie offensichtlich rasch in die Breite, werden flacher und schließen sich zu einer Art von Pseudoparenchym zusammen, das die Algenpakete allseitig umgibt (Abb. 4); dabei verquellen die Wände mehr und mehr. Die kurzgliedrigen Hyphenzellen der Hüllen stehen mit gestreckten Hyphen in Verbindung (Abbildung 3), bei welchen nicht selten Schnallen zu sehen sind (Abb. 5). Gelegentlich finden sich in den größeren Paketen aus mehreren Hyphen bestehende Stränge, von denen Einzelhyphen abzweigen und die Algengruppen durchsetzen. Sie wirken offenbar an der Aufteilung der sich durch Vermehrung und Vergrößerung der Algen ständig vergrößernden Algenkomplexe mit.

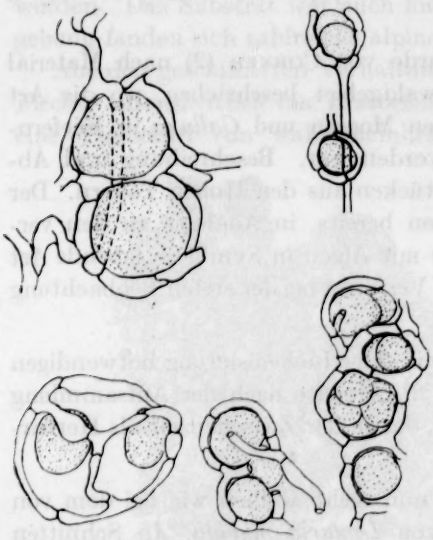


Abb. 3

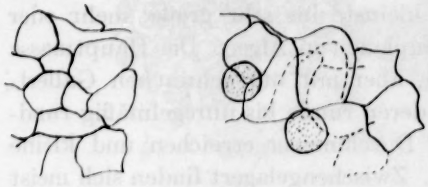


Abb. 4

Abb. 5

Abb. 3. Umspinnungen ein- bis wenigzelliger Algengruppen; manche Hyphenzellen zeigen bereits die Tendenz zur Verbreiterung. In der Abbildung Mitte links ist die Mehrzahl der Algen ausgequetscht worden

Abb. 4. Alte, zum Teil im Verfall begriffene Hyphen-Pseudoparenchyme

Abb. 5. Schnallen an gestreckten Hyphen

Für die Untersuchung stand, wie oben betont, nur Herbarmaterial zur Verfügung, so daß nicht alle wünschenswerten Aufschlüsse erzielt werden konnten. Da aber allen eruierten Tatsachen nach angenommen werden kann, daß die morphologische Ausgestaltung des symbiontischen Verhältnisses weitgehend dem von GEITLER geschilderten Fall entspricht, sei auf dessen Studien verwiesen.

Es bleibt auf jeden Fall der Eindruck einer morphologisch und biologisch hochentwickelten und konstanten Symbiose. Die von den Hyphenparenchymen umgebenen und durchsetzten Algenpakete können bereits als eine Art von Thallusschuppen aufgefaßt werden, auch wenn sie wegen ihrer Kleinheit und Gedrängtheit habituell schlecht definierbar sind.

Zusammenfassung

Die erst vor 2 Jahren aus Nordschweden beschriebene Clavariacee *Clavulinopsis septentrionalis* CORNER wird erstmalig für Mitteleuropa nachgewiesen. Sie konnte an 4 Stellen in der alpinen und hochalpinen Stufe der Hohen Tauern aufgefunden werden, wo sie als Erstbesiedler auf künstlich entblößtem oder natürlich erodiertem Boden wächst.

Die Art zeigt eine konstante, auch äußerlich auffallende Symbiose mit einer einzelligen, *coccomyxa*ähnlichen Grünalge. In der morphologischen Ausgestaltung des symbiontischen Verhältnisses gleicht sie weitgehend dem von GEITLER näher analysierten Fall von *Clavaria mucida*, d. h., sie bildet wie diese um die Kolonien der Alge pseudoparenchymatische Hüllen, die bereits als eine Art von Thallusschuppen aufzufassen sind.

Die Lebensgemeinschaft ist also als eine ziemlich hochdifferenzierte Basidiolichene aufzufassen.

Literatur

ABBAYES, H. DES: Traité de Lichénologie. Encyclopédie biol. **41** (1955). — COKER, W. C.: Selected notes. III. Clavaria mucida Pers. Bot. Gaz. **37**, 62 (1904). — CORNER, E. J. H.: (1) Clavaria and allied genera. Ann. Botany Mem. **1**, 1—740 (1950). — (2) A new european Clavaria: Clavulinopsis septentrionalis sp. nov. Friesia **5**, 218 —220 (1956). — GEITLER, L.: (1) Clavaria mucida, eine extratropische Basidiolichene. Biol. Zbl. **74**, 145—159 (1955). — (2) Ergänzende Beobachtungen über die extratropische Basidiolichene Clavaria mucida. Öst. bot. Z. **103**, 164—167 (1956). — MATTICK, F.: (1) Lichenes, Flechten, XIII. Abt. in ENGLER, Syllabus der Pflanzenfamilien, 2. Aufl., S. 204—218. 1954. — (2) Lichenologische Notizen, 2. Funde lichenisierter Clavarien in Brasilien. Ber. dtsch. bot. Ges. **66**, 269—270 (1953). — PALM, B. T.: Clavarien und Algen. Svensk. bot. T. **26**, 175 bis 190 (1932). — PILÁT, A.: Übersicht der europäischen Clavariaceen unter besonderer Berücksichtigung der tschechoslowakischen Arten. Actae Mus. nat. Pragae B **14**, 3—4, 129—255 (1958). — TOBLER, F.: Flechtenähnliche Symbiose einer Polyporacee mit Algen. Ber. dtsch. bot. Ges. **67**, 406—409 (1954). — TOMASELLI, R.: Appunti sulla sistematica e distribuzione geografica dei Basidiolicheni. Inst. bot. Univ. Lab. critt. Pavia Atti, Ser. V, **9**, 241—257 (1951).

Dr. JOSEF POELT,
Botanische Staatssammlung, München 19, Menzingerstr. 67

Planta, Bd. 52, S. 606—622 (1959)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Wien

EXTREME ANISOGAMIE UND EIN BEMERKENSWERTER FALL DER GESCHLECHTSBESTIMMUNG BEI EINER NEUEN *CHLAMYDOMONAS*-ART*

Von

ELISABETH TSCHERMAK-WOESS

Mit 8 Textabbildungen

(Eingegangen am 25. November 1958)

Die Ausbildung von typischen unbehäuteten Spermien nach dem Muster vieler Volvocinae ist bei *Chlamydomonas* bisher nur in einem Fall, nämlich bei *Chlamydomonaa pseudogigantea* KORSCHIKOFF beobachtet worden (GEITLER 1954). Sie ist bei dieser Art mit einer Oogamie im strengsten Sinn verknüpft; die Kopulation erfolgt nämlich erst nach dem Freiwerden des gleichfalls unbehäuteten Eies aus dem Oogonium. Spermien des gleichen Baues fanden sich nun auch bei einer anderen Chlamydomonade, *Chlamydomonas suboogama* n. sp.; auch in bezug auf die weiblichen Gameten sind die Verhältnisse denen bei *Chl. pseudogigantea* sehr ähnlich, bis auf den Umstand, daß sie bei *Chlamydomonas suboogama* regelmäßig noch — praktisch funktionslose — Geißeln besitzen. Dazu kommt ein eigenartiger, vorderhand ungeklärter Mechanismus der haplomodifikatorischen Geschlechtsbestimmung, der bewirkt, daß von 4 Schwesterzellen regelmäßig eine zu einem Spermatogon wird und drei sich zu Makrogametangien entwickeln. Weiters lassen bestimmte Einzelheiten während des Austrittes des weiblichen Gameten (vgl. unten) die Oogoniogamie anderer Arten, wie *Chl. coccifera* und *Chl. praecox,* in neuem Licht erscheinen und stellen sie die Verbindung zwischen dieser und der echten Oogamie von *Chl. pseudogigantea* her. Schließlich kommt es offenbar in der Regel zwischen Spermien und Makrogameten aus Schwestergametangien nicht zur Kopulation; es wird also trotz Monözie Fremdbefruchtung und damit eine gewisse genetische Variabilität innerhalb der Population erreicht.

Es handelt sich bei *Chl. suboogama* um eine Art, die im vegetativen Zustand nicht besonders auffällt und auf Grund des Chromatophorenbaues und anderer Merkmale in die Untergattung *Euchlamydomonas* gestellt werden muß. Wenn man vom sexuellen Verhalten absieht, würde sie sich an Typen aus dem Formenkreis von *Chlamydomonas debaryana* GOROSCHANKIN, wie etwa GERLOFFS var. *microcapillata,* anschließen.

* Herrn Prof. Dr. L. GEITLER zum 60. Geburtstag.

Doch besitzt sie größere Zellen als diese; auch ist das Basalstück des Chromatophors stets dicker und der Zellkern relativ größer als bei *Chl. debaryana microcapillata*. Ein ähnlich massiver Chromatophor wie bei der vorliegenden Art findet sich bei *Chl. reinhardi* DANGEARD; von dieser unterscheidet sie sich jedoch durch das Vorhandensein einer Papille. Weiters geht die vegetative Vermehrung bei *Chl. suboogama* so wie bei den erwähnten und anderen ihnen nahestehenden Formen unter einer scheinbaren Querteilung (vgl. unten) vor sich und herrscht in bezug auf die Glattwandigkeit der Zygoten Übereinstimmung. Abweichend ist dagegen die Ausbildung der Gameten: Im Verwandtschaftskreis von *Chl. debaryana* besteht nämlich Isogamie, bei *Chl. suboogama* aber eine sehr weit vorgeschrittene Heterogamie.

Zu dem Zeitpunkt (Ende April 1958), zu dem die Art in einem großen Betonbecken für höhere Wasserpflanzen im Botanischen Garten der Universität Wien erstmalig beobachtet wurde, befand sich die Chlamydomonade bereits in lebhafter geschlechtlicher Fortpflanzung, und zwar spielte sich diese in einem etwa 5 mm dicken, graugrünen, zottigen Wandbelag ab, während frei im Wasser nur mehr eine geringe Anzahl von vegetativen Zellen zu finden war. Diese besitzen ellipsoidische bis leicht eiförmige oder verkehrt eiförmige Gestalt (Abb. 1a); vor der Teilung stehende Zellen haben eine Länge von 18,5—24 (27) μ und eine Breite von 14,5—20,5 (22,5) μ. Junge Zellen sind 14—15 μ lang und 10—11 μ breit. Der Protoplast liegt der Zellwand allseitig eng an; am Vorderende ist diese zu einer kleinen, nicht scharf abgesetzten Papille vorgezogen (Abb. 1b). Die Geißellänge gleicht bei jungen Zellen der Körperlänge oder übertrifft sie etwas, bei älteren Zellen beträgt sie etwas weniger (um 1—5 μ) als die Körperlänge. Der becherförmige Chromatophor läßt nur einen kleinen Hohlraum frei, sein massives Basalstück reicht regelmäßig bis über die Zellmitte und ist nach innen stets gerade begrenzt. Das Pyrenoid liegt etwas unterhalb der Zellmitte; es trägt eine vielschollige Stärkehülle. Alle zur Beobachtung gelangten vegetativen Zellen enthielten reichlich Stromastärke in Form von ellipsoidischen, relativ großen Körnern; diese stehen an der Peripherie der Zelle zumeist radial. Dies ist darauf zurückzuführen, daß der Chromatophor radiale Einschnitte besitzt, was aber nur an einzelnen weiblichen Gametangien unmittelbar beobachtet werden konnte (vgl. unten), während an vegetativen Zellen (und auch der überwiegenden Zahl der Gametangien) die äußere Begrenzung des Chromatophors infolge seines hohen Stärkegehaltes nicht klar zu erkennen ist. Das flach ellipsoidisch geformte Stigma befindet sich in der vorderen Zellhälfte, gewöhnlich näher dem Äquator als dem Vorderende. Der Zellkern liegt dem Basalteil des Chromatophors an; abgesehen vom Nucleolus, erscheint er im Leben optisch homogen, und auch in fixiertem und gefärbtem Zustand (Alk.-

Eisessig, Karminessigsäure) erweist er sich als chromatinarm. Die beiden pulsierenden Vacuolen stehen, wie allgemein üblich, quer zur Geißelebene.

Im Zuge der vegetativen Vermehrung entstehen aus einer Mutterzelle vier, seltener zwei Tochterzellen; und zwar kommt es nach Rück-

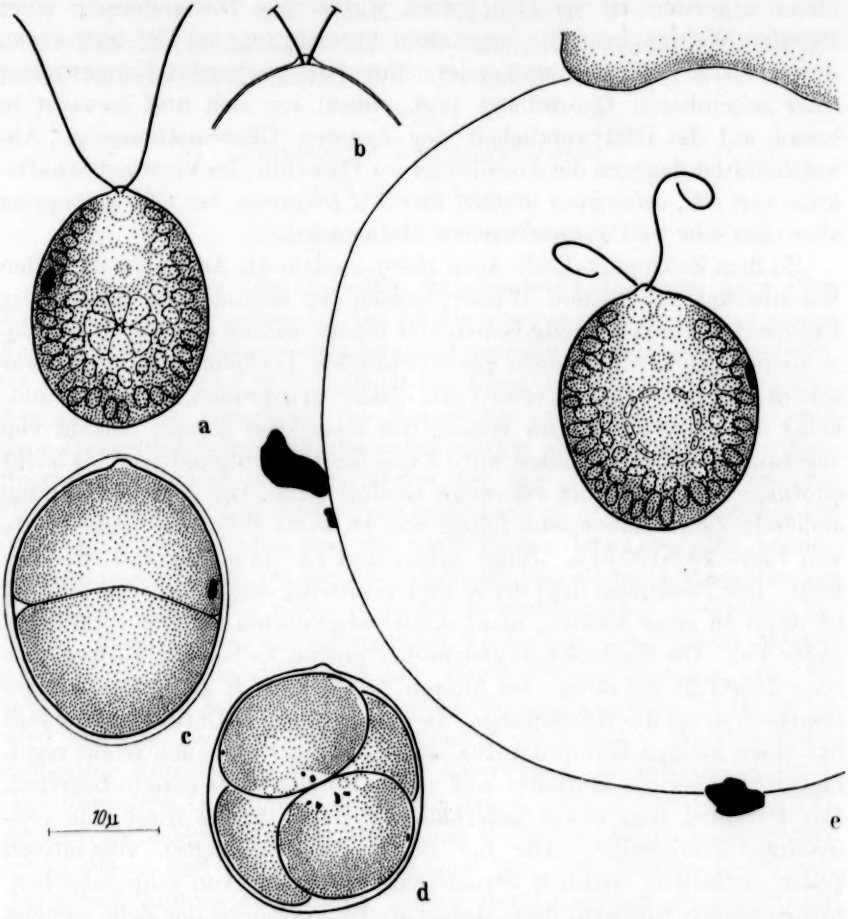


Abb. 1a—e. *Chlamydomonas suboogama*. a Erwachsene vegetative Zelle; b Geißelinsertion und Papille (nicht im beigegebenen Maßstab); c Stadium der succedanen Teilung einer vegetativen Zelle (vgl. im einzelnen den Text); d Endstadium der vegetativen Teilung; e Gametangienmutterzelle mit mächtiger Gallerthülle (diese rechts nicht vollständig dargestellt). — Alle Abbildungen nach dem Leben

bildung der Geißeln sowie Ausscheidung einer dünnen Gallerthülle und nach einer Drehung des Inhaltes um 90° zu einer Querteilung in bezug auf die ursprüngliche Achse bzw. zu einer Längsteilung in bezug auf den Protoplasten (Abb. 1c). Die plasmatische Grenzfläche zwischen den beiden Tochterzellen ist zunächst eben, später wird sie gewölbt, was offenbar damit zusammenhängt, daß die Chromatophoren der Tochter-

zellen sich etwas umformen und sich umlagern; im Endstadium kehren sie sich dann die — sehr weite — Mündung zu, wobei ihre Ränder in einer Ebene stärker vorgezogen und in einer anderen um 90° gedrehten eingebuchtet sind; die Vorwölbung des einen Chromatophors greift dabei in die Ausnehmung des anderen und die Zellform ist entsprechend angepaßt (Abb. 1c). Dies stellt offenbar eine Vorbereitung auf den zweiten Teilungsschritt dar, dessen Teilungsebenen senkrecht aufeinander stehen. Das Resultat sind vier tetraëdrisch gelagerte Tochterzellen, die nach Abrundung, Ausbildung von neuen pulsierenden Vacuolen, Stigmen, Pyrenoiden und Geißeln frei werden. Palmelloide Zustände wurden nicht beobachtet.

Die geschlechtliche Fortpflanzung wird dadurch eingeleitet, daß eine vegetative Zelle, die sich zunächst in nichts von anderen unterscheidet, sich mittels einer mächtigen, allseitig abgeschiedenen Gallerte zwischen anderen in ähnlichem oder weiter fortgeschrittenem Entwicklungszustand befindlichen Zellen, zwischen Gruppen von Gametangien, Zygoten, Kalkschüppchen, Detritusteilchen und Bewuchs kleiner Algen anheftet, wobei sie zunächst noch ihre Geißeln behält und innerhalb der Gallerte pendelnde Bewegungen ausführt (Abb. 1e). Normalerweise werden dann die Geißeln rückgebildet[1] und spielen sich Teilungsvorgänge ab, die völlig nach dem Muster der oben geschilderten vegetativen Teilung verlaufen. Das Resultat sind schließlich vier junge begeißelte Gametangien, die sich zunächst in nichts voneinander und von jungen vegetativen Zellen unterscheiden; bloß das Vorhandensein der Gallerthülle zeichnet sie aus. Auch sie pendeln in dieser hin und her, ohne ihre Lage wesentlich zu verändern. — Die Gallerte besitzt das gleiche Lichtbrechungsvermögen wie Wasser, so daß sie sich nicht unmittelbar erkennen läßt, und zeigt keinerlei Schichtung. Bei Zusatz von Rutheniumrot und anderen Farbstoffen schrumpft sie und färbt sich bestenfalls äußerst zart an. Man kann ihre Umgrenzung durch Zusatz von Tuschesuspension deutlich sichtbar machen und sie oft auch bloß dadurch erkennen, daß sie mit Kalkschüppchen und Detritusteilchen besetzt ist. Im Verlauf der weiteren Entwicklung der Gametangien fallen sehr bald — schätzungsweise längstens 30 min nach ihrer Entstehung — bestimmte Unterschiede zwischen ihnen auf: Während drei äußerlich unverändert bleiben, zieht sich im vierten der Chromatophor vom Vorderende etwas zurück, auch nimmt er allmählich einen schmutzigen Farbton an (Abb. 2a); die Geißeln werden eingeschmolzen (Abb. 2b). Es handelt sich um das junge Spermatogon, bei seinen drei Schwesterzellen um weibliche Gametangien. Unter weiterer Verfärbung gegen olivgrün dreht sich der Inhalt des Spermatogons um 90°, was relativ rasch vor sich geht

[1] Gelegentlich kann eine solche Zelle wohl infolge Umstimmung sich wieder aus ihrer Gallerte befreien und wegschwimmen.

(vgl. die Zeitangaben bei Abb. 2b, c), dann kommt es zur Zerlegung in zwei und schließlich vier unbehäutete Tochterzellen, wobei sich analoge Vorgänge wie bei der vegetativen Teilung und bei der Teilung der Gametangienmutterzellen vollziehen (Abb. 2d—g). Nach einem Reifungsprozeß, von dem insbesondere die gelb-orange Färbung der Chromatophoren und die Neubildung der Stigmen (das Stigma der Mutter-

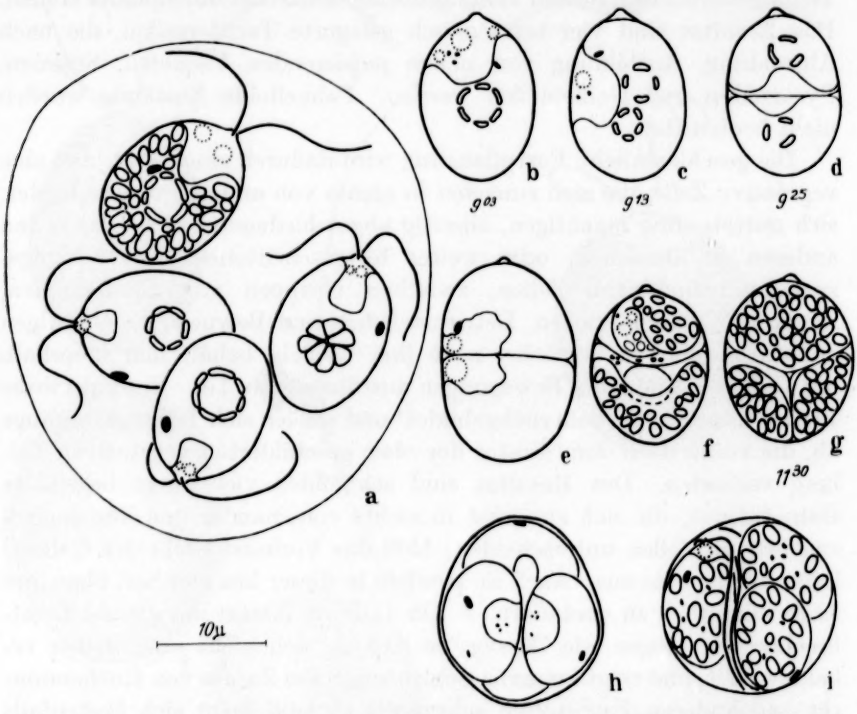


Abb. 2a—i. *Chlamydomonas suboogama*. a Vierergruppe aus einem männlichen (oben) und drei weiblichen jungen Gametangien, vereinigt durch die Gallerthülle der Gametangienmutterzelle; b—g Stadien der Spermatogon-Entwicklung; b, c, d, g das gleiche Spermatogon; e, f zwei andere Spermatogone (e Entwicklungsstufe zwischen c und d, f zwischen d und g); h, i Stadien der Spermiogenese. — Alle Abbildungen nach dem Leben

zelle schwindet unterdessen, vgl. Abb. 2h) auffällt, werden die Spermien noch innerhalb der gedehnten Spermatogonwand schwach beweglich (Abb. 2i). Sobald diese verquillt, schwimmen sie — allerdings offenbar mühsam — innerhalb der Gallerte der Gametangienmutterzelle umher und gelangen schließlich nach Durchtritt durch die äußeren, anscheinend stärkeren Widerstand bietenden Schichten ins freie Wasser. Ihre Form ist veränderlich und schwankt zwischen einer länglichen und einer mehr gedrungenen Ausbildung; jedenfalls ist das Vorderende zugespitzt und offenbar als Perforatorium entwickelt, das Hinterende breit abgerundet (Abb. 3a, 5d, 6a, 7, 8a, d, g); die Geißeln setzen unterhalb des Perfora-

toriums an und sind ungefähr $1^1/_2$ mal körperlang. Der Zellkern liegt im Hinterende, der muldenförmige Chromatophor seitlich; er enthält Stärkekörner, die zunächst ungefähr ebenso groß sind wie die der weiblichen Gametangien, bis zur Befruchtung aber deutlich an Volumen abnehmen (vgl. Abb. 2i, 3a mit Abb. 3c und 7). Die Größe der Spermien ist unterschiedlich, was einerseits auf Unterschiede im Zellvolumen der

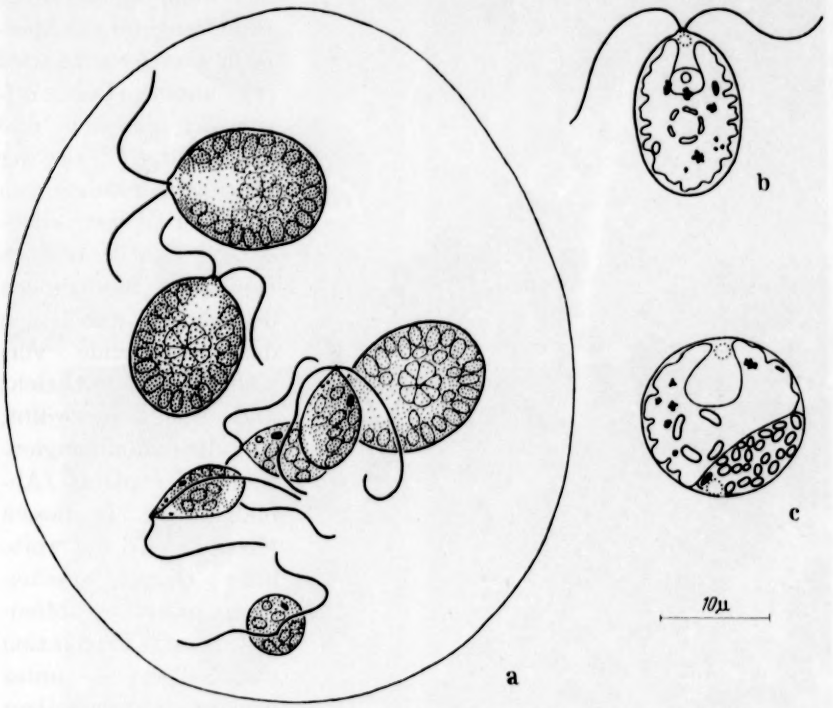


Abb. 3a—c. *Chlamydomonas suboogama*. a Gruppe von drei Makrogametangien und vier eben frei gewordenen Spermien in der Gallerthülle der Gametangienmutterzelle; b Makrogametangium mit stärkearmem Chromatophor und stark lichtbrechenden Körnchen (vgl. den Text); c Zygote aus einem stärkearmen Makrogameten und einem normalen Spermium. Alle Abbildungen nach dem Leben

Gametangienmutterzellen bzw. der Spermatogone zurückgeht; andererseits entstehen mitunter in einem Spermatogon 8 — dann entsprechend kleinere — Spermien, und besonders große bilden sich, wenn die Gametangienmutterzelle sich nur in zwei Tochterzellen, nämlich ein weibliches Gametangium und ein Spermatogon, zerlegt, was gelegentlich vorkommt (Abb. 5d). Im allgemeinen hält sich die Länge der Spermien rund um 9 μ, die Breite (im dicksten Teil) um 4,5 μ.

An den Makrogametangien sind während der Spermiogenese keine morphologischen Veränderungen zu bemerken; sie gleichen jungen vegetativen Zellen (Abb. 2a, 3a, b, 4, 5). Gewöhnlich erst nach dem Austritt

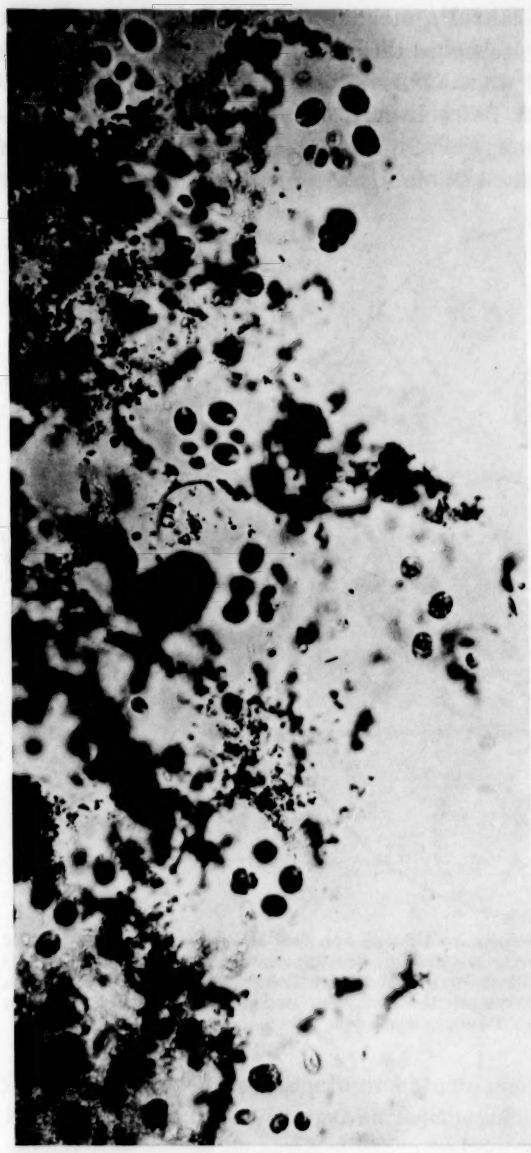


Abb. 4. *Chlamydomonas suboogama*. Übersichtsbild, mehrere Gruppen von je drei Makrogametangien und vier Spermien zeigend, im Bild unten nur *ein* relativ großes Makrogametangium zusammen mit vier Spermien. Nach dem Leben; phot. Vergr. 200fach

der Spermien aus der gemeinsamen Hülle, gelegentlich aber auch früher oder später, werden die weiblichen Gameten frei; oft treten sie erst aus, wenn das weibliche Gametangium von Spermien umschwärmt wird (vgl. unten). Dieses öffnet sich dadurch, daß der Inhalt, d. h. also der Makrogamet, ohne sich von der Wand abzuheben, relativ kräftige metabole Bewegungen durchführt, wobei sich das Vorderende vorwölbt, sich zurückzieht und wieder vorwölbt, bis die Gametangienwand hier platzt (Abbildung 8a). In diesem Moment wird der weibliche Gamet anscheinend passiv — offenbar durch Produktion von Gallerte — unter Annahme uhrglasartiger Formen herausgepreßt (Abb. 8b); er kugelt sich ab, behält jedoch die Geißeln und sondert sehr rasch noch innerhalb der Gallerthülle der Gametangienmutterzelle eine Spezialhülle ab, durch die die Gametangienwand abgehoben wird (Abb. 6a, b). Wahrscheinlich trägt zur Öffnung des Makrogametangiums auch der Umstand bei, daß die Papille verquillt; an den entleerten weiblichen Gametangien ist nämlich nie eine Papille zu erkennen. Gelegentlich bleibt ein

Restkörper, der auch ein Stück des Chromatophors enthalten kann, im Gametangium zurück (Abb. 8c). So wie die Gametangien bewegen sich auch die weiblichen Gameten in der Gallerte ruckartig hin und her, ohne ihre Lage wesentlich zu verändern (Abb. 7).

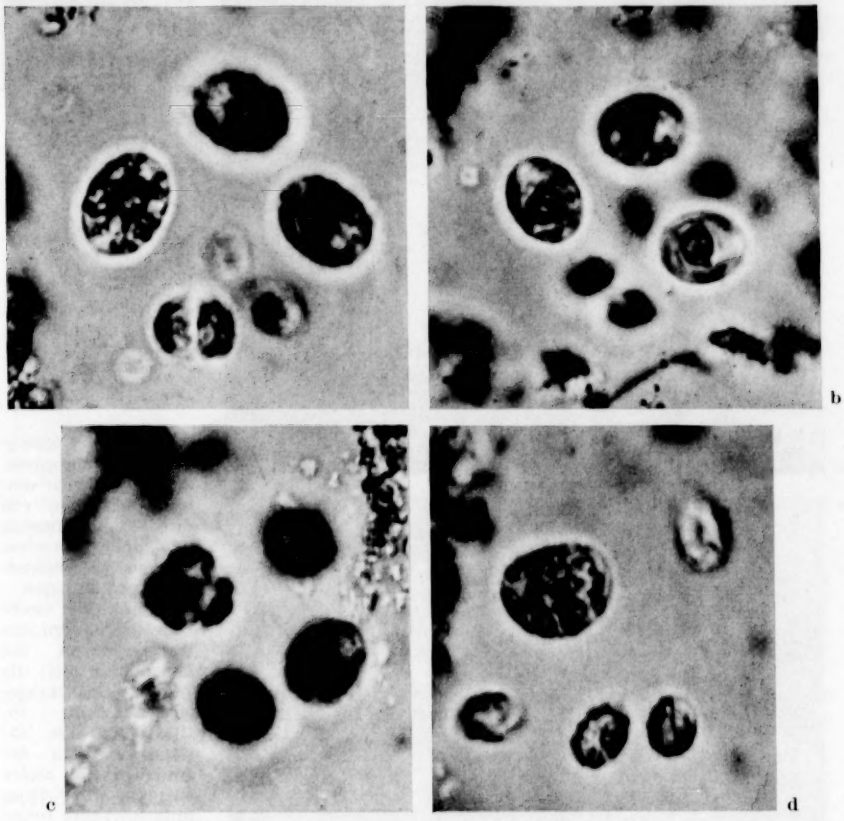
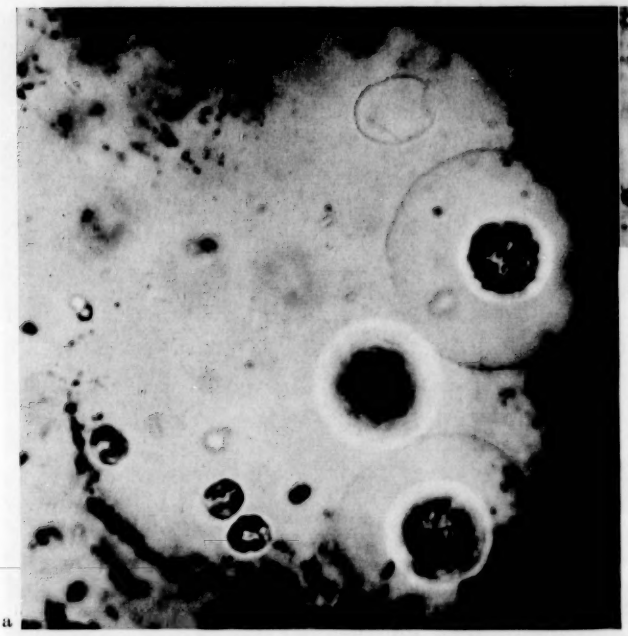


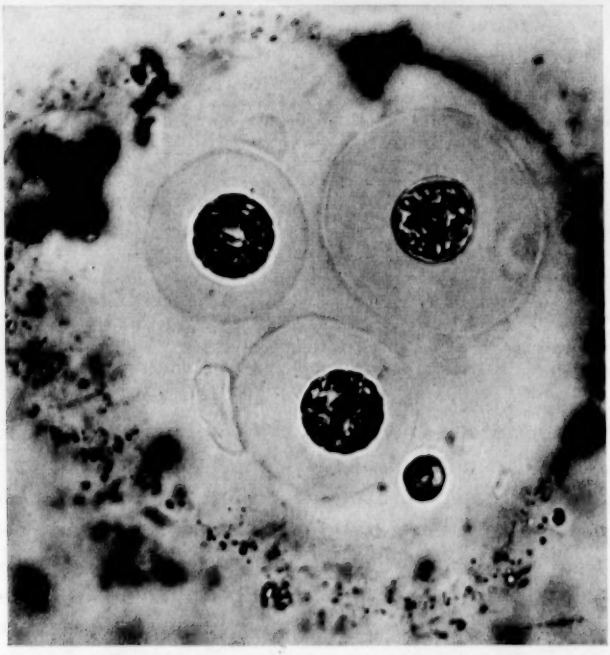
Abb. 5a—d. *Chlamydomonas suboogama*. Einzelne Gruppen aus Abb. 4 bei stärkerer Vergrößerung. — Nach dem Leben; phot. Vergr. 820fach

Die Spermien müssen auf dem Wege zu den weiblichen Gameten oder Gametangien, von denen sie gleichfalls angelockt werden (vgl. unten), zunächst die noch immer vorhandene Gallerthülle der Gametangienmutterzelle passieren, als erste also die Grenzschicht Wasser—Gallerte durchstoßen; ein zweites deutliches Hindernis bietet die Grenzschicht zwischen der übrigen Gallerte und der Spezialhülle des weiblichen Gameten (Abb. 6b), und auch in der letzteren kommen sie anfangs schlecht und nur unter Formveränderungen weiter, die manchmal sogar zur Abschnürung kleiner Teile führen (Abb. 8g, h). Allmählich scheinen sich aber durch bestimmte Absonderungen (von seiten des weiblichen



a

c



b

Abb. 6a—c. *Chlamydomonas suboogama*. a Von Gallerte umhüllte Gruppe von drei Makrogameten und drei Spermien, die aus vier Schwestergametangien stammen (das vierte zugehörige Spermium trat während der Einstellung aus; die Wand eines Makrogametangiums im Bild oben, die übrigen nicht in der Bildebene); b andre Gruppe mit einer jungen Zygote (oben rechts) und zwei Eiern, an der Gallerthülle des unteren links die abgehobene Gametangienwand und rechts ein frisch eingedrungenes Spermium (die der Gruppe ursprünglich angehörenden Spermien sind bereits ausgetreten!); c halbreife Zygote. Alle Abbildungen nach dem Leben; phot. Vergr. 820fach

Gameten oder des Spermiums?) zumindest die inneren Schichten zu erweichen, da sie rund um die weiblichen Gametangien bzw. Gameten

sehr rasch gleiten. Dabei sind sie oft auf der dem Gametangium oder Gameten anliegenden Seite abgeflacht (Abb. 8a); der Chromatophor liegt dorsal. Werden weibliche Gametangien angeschwärmt, so erfolgt die Befruchtung schon während des Austrittes des weiblichen Gameten (Abb. 8a—c), und zwar so, daß das Spermium mit Hilfe des Perforatoriums den weiblichen Gameten in dem bereits frei gewordenen Teil anbohrt und dann im Nu seitlich mit ihm verschmilzt. Bereits entleerte

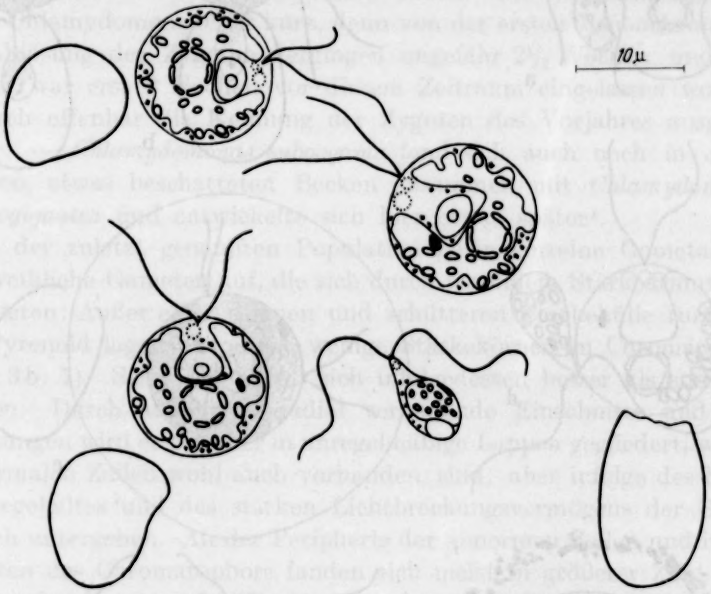


Abb. 7. *Chlamydomonas suboogama.* Gruppe von drei (stärkearmen) Makrogameten mit den zugehörigen Gametangien und einem eingedrungenen Spermium (Gallerthüllen nicht dargestellt). — Nach dem Leben

weibliche Gameten besitzen offenbar ein festeres Oberflächenhäutchen, denn es gelingt den Spermien meist nicht so schnell wie bei frisch ausgetretenen, es zu durchbrechen. Nach der Perforation vollzieht sich die Verschmelzung auch in diesem Fall sehr rasch und von den Flanken her. Die Kopulation erfolgt an beliebigen Stellen, aber nie direkt vom Vorderende her. Sofort nach der Befruchtung erlischt die Anziehungskraft für andere Spermien. Die Zygote trägt zunächst zwei Geißelpaare (ein kürzeres vom weiblichen Gameten und ein längeres vom Spermium) und läßt in ihrem Inneren deutlich die vom Spermium und vom weiblichen Gameten herrührenden Anteile erkennen (Abb. 8e). Die Geißeln werden unmittelbar nach der Befruchtung weniger beweglich, zunehmend kürzer und verschwinden bald ganz (vgl. Abb. 8b mit c; Abb. 8e, Abb. 3c). Daß sie aber unter Umständen länger erhalten bleiben und funktionieren können, zeigte ein Fall, in dem eine Planozygote bei der Präparation

zufällig aus der Gallerte ausgequetscht wurde und eine halbe Stunde — ohne allerdings das Gesichtsfeld zu verlassen — drehende Bewegungen

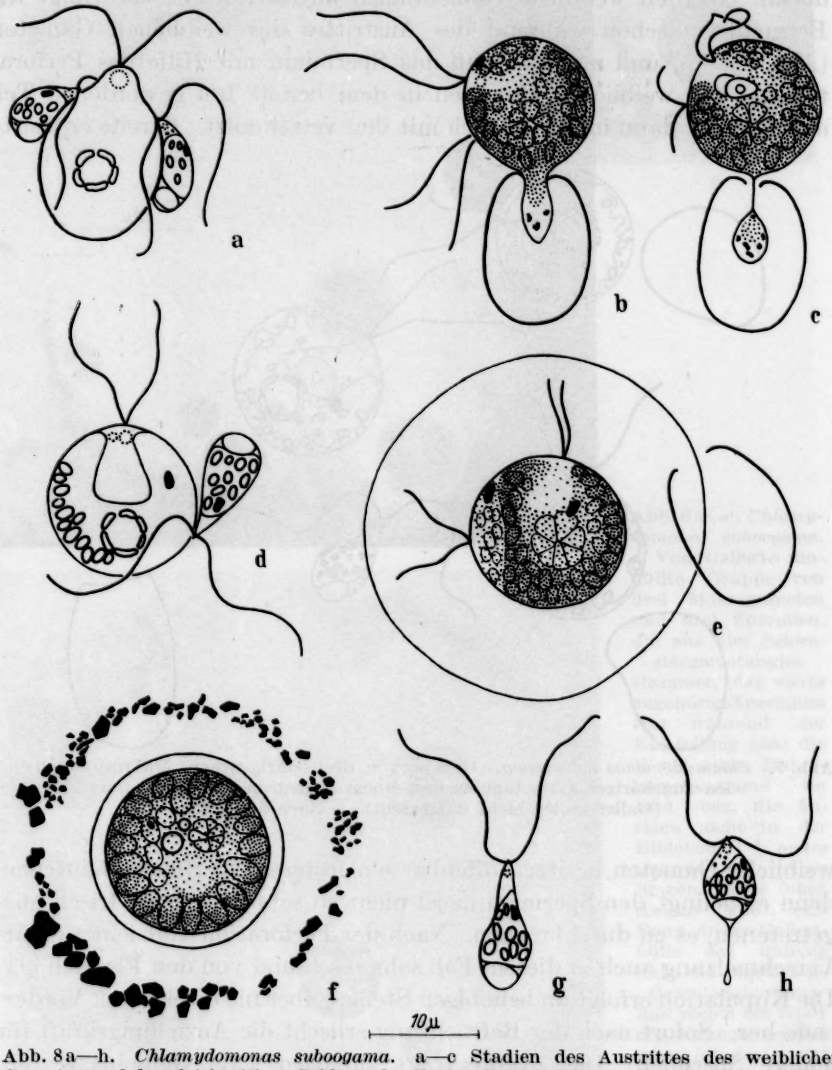


Abb. 8a—h. *Chlamydomonas suboogama*. a—c Stadien des Austrittes des weiblichen Gameten und der gleichzeitigen Bildung der Zygote (bei c infolge rascher Gallertproduktion abgeschnürter und im Makrogametangium zurückbleibender Plasmarest mit Chromatophorenstück); d von Spermium umschwärmter Makrogamet; e junge Zygote mit ihrer Spezialhülle und dem zugehörigen entleerten Makrogametangium; f halbreife Zygote mit fester Wand und von Kalkschüppchen besetzter Gallerthülle; g, h Spermien, die sich unter Formveränderungen und Abschnürung eines Plasmateiles innerhalb der (nicht dargestellten) Gallerthüllen fortbewegen. — Alle Abbildungen nach dem Leben

ausführte. Die vom weiblichen Gameten abgesonderte Spezialhülle vergrößert sich während der Zygotenbildung noch etwas und auch ihre

Konsistenz dürfte sich ändern, da der Lichtbrechungsunterschied zwischen ihr und der von der Gametangienmutterzelle stammenden Gallerte deutlicher wird als vorher (Abb. 6b). Allmählich entsteht aber unmittelbar rund um den Protoplasten der Zygote eine dicke glatte Wand, ihr Inhalt verfärbt sich langsam orangerot, und die Gallerthüllen schwinden (Abb. 6c, 8f). Damit lösen sich die Zygoten von der Wand des Betonbeckens ab und sinken in den Schlamm des Bodens, wo sie offenbar bis zum nächsten Frühjahr ruhen. Die Vegetationsperiode dieser Chlamydomonade ist kurz, denn von der ersten Beobachtung bis zur Ablösung der Zygoten vergingen ungefähr $2^1/_2$ Wochen und das Wasser war erst 2 Wochen vor diesem Zeitraum eingelassen worden, wodurch offenbar die Keimung der Zygoten des Vorjahres ausgelöst wurde. — *Chlamydomonas suboogama* fand sich auch noch in einem anderen, etwas beschatteten Becken zusammen mit *Chlamydomonas pseudogigantea* und entwickelte sich hier etwas später[1].

In der zuletzt genannten Population fielen einzelne Gametangien und weibliche Gameten auf, die sich durch besondere Stärkearmut auszeichneten: Außer einer dünnen und schütteren Stärkehülle rund um das Pyrenoid lagen nur einige wenige Stärkekörner im Chromatophor (Abb. 3b, 7). Seine Form ließ sich infolgedessen besser als sonst erkennen. Durch annähernd radial verlaufende Einschnitte und Einbuchtungen wird er peripher in unregelmäßige Lappen gegliedert, welche in normalen Zellen wohl auch vorhanden sind, aber infolge des hohen Stärkegehaltes und des starken Lichtbrechungsvermögens der Stärke optisch untergehen. An der Peripherie der abnormen Zellen und in den Buchten des Chromatophors fanden sich meist in größerer Zahl stark lichtbrechende, unregelmäßig kantig geformte und manchmal aus Teilstücken zusammengesetzte kristallartige Körnchen. Reife Spermien mit stärkearmen oder -freien Chromaphoren gelangten nicht zur Beobachtung; auf Grund des Vorkommens bestimmter früher und später Entwicklungsstadien muß aber angenommen werden, daß sie entstehen und aus der Gallerthülle austreten können. Ob sie funktionsfähig sind, muß allerdings offenbleiben, denn es fanden sich nur Zygoten, die von stärkearmen weiblichen Gameten und normalen Spermien stammten (Abb. 3c). Übergänge zwischen stärkearmen und normalen Zellen traten nicht auf.

[1] *Chlamydomonas pseudogigantea* trat in diesem Becken im Frühjahr 1958 sehr reichlich auf, doch wurden fast keine Spermien gebildet. Die Eier entwickelten sich parthenogenetisch, und zwar traten sie entweder wie im Normalfall aus dem Oogon aus, oder es wurde durch Produktion von Schleim die Oogonwand allseitig abgehoben und kräftig gedehnt. Die Parthenosporen glichen völlig den in anderen Jahren gebildeten Zygoten bis auf den Umstand, daß sie zu Beginn der Entwicklung nur *ein* Stigma besaßen; später wird dieses so wie die zwei Stigmen der Zygoten rückgebildet. Derartige Parthenosporen dürften KORSCHIKOFF (zit. nach PASCHER 1927) vorgelegen und von ihm als Cysten bezeichnet worden sein.

Merkwürdig ist das folgende, zum Teil schon angedeutete Verhalten der Spermien. Obwohl zahlreiche (schätzungsweise mindestens 100, wahrscheinlich bedeutend mehr) Gruppen von drei weiblichen Gametangien und den vier reifenden Spermien gleicher Herkunft beobachtet wurden (wie in Abb. 3a, 5a, b dargestellt), wurde kein einziges Mal festgestellt, daß die Spermien die Makrogametangien oder die bereits frei gewordenen Makrogameten der eigenen Gruppe umschwärmten. Dagegen werden sie außer von den weiblichen Gameten anderer Gruppen auch von weiblichen Gametangien, von Gametangienmutterzellen und selbst von vegetativen Zellen (vielleicht solchen, die knapp vor der Anheftung stehen) angelockt (aber nicht von Zygoten; vgl. oben). Dies ist wohl so zu deuten, daß die Spermien erst während des Herumschwimmens im freien Wasser so weit reifen, daß sie auf die weiblichen Gamone ansprechen. Wenn es sich nach den bisher vorliegenden Beobachtungen auch nicht sicher ausschließen läßt, daß sie manchmal wieder zu den weiblichen Gameten ihrer angestammten Gruppe zurückkehren und mit ihnen kopulieren, so werden sie doch rein zufallsgemäß viel öfter in fremde Gruppen eindringen; damit wird offenbar auf relativ einfache Weise Fremdbefruchtung und dasselbe erreicht wie mit vielfach recht komplizierten Mechanismen bei monözischen, allogamen Angiospermen, nämlich die Erhaltung einer erblichen Variabilität und einer gewissen Plastizität der Population.

Das Auffallendste an *Chlamydomonas suboogama* ist aber wohl die Tatsache, daß von vier Schwestergametangien konstant nur eines männlich und drei weiblich determiniert werden. Mechanische oder morphologische Daten, die mit diesem Verhalten zusammenhängen, ließen sich nicht auffinden — etwa in dem Sinn, daß eine Tochterzelle von bestimmter Lage in bezug auf die Polarität der Mutterzelle männlich bestimmt wäre; denn es entstehen ja zunächst vier morphologisch *völlig* gleichwertige Zellen; sobald es in ihnen zu spezifischen Veränderungen kommt, läßt sich die ehemalige Orientierung der Gametangienmutterzelle nicht mehr rekonstruieren. Der anscheinend maßgebende stoffliche Faktor (oder *die* Faktoren) wird offenbar bei jeder der beiden Teilungen der Gametangienmutterzelle streng polar nur einer Tochterzelle zugeteilt.

Hinsichtlich der Art der geschlechtlichen Fortpflanzung kommt *Chl. suboogama*, wie eingangs erwähnt, der *Chl. pseudogigantea* sehr nahe. Würden die weiblichen Gameten nicht noch regelmäßig Geißeln tragen, so würde das gleiche Verhalten wie bei *Chl. pseudogigantea* vorliegen und man könnte ohne Bedenken von echter Oogamie sprechen (vgl. GEITLER 1954). Tatsächlich fassen zahlreiche Autoren den Begriff der Oogamie so weit, daß sie Fälle analogen Verhaltens ihm zuzählen und von begeißelten Eiern sprechen (z. B. PASCHER 1939 bei *Sphaeroplea*, *Phyllomonas*, *Aphanochaete*; IYENGAR bei *Eudorina;* IYENGAR und

RAMANATHAN bei *Pleodorina*); abgesehen von dem Grenzfall von *Sphaeroplea*, wäre es im Sinne einer exakten Terminologie jedoch wohl besser, die Bezeichnung Ei nur für unbegeißelte Makrogameten vorzubehalten. Allerdings stößt eine strenge Begriffsbildung und Homologisierung gerade bei den meisten ausgeprägt heterogamen *Chlamydomonas*-Arten auf Schwierigkeiten. Denn es gibt eine Reihe von Arten *(Chl. braunii, Chl. coccifera, Chl. coccifera* var. *mesopyrenigera, Chl. cingulata, Chl. praecox)*, bei denen „behäutete" Spermien und „behäutete Eier" bzw. „behäutete Makrogameten" auftreten. Wenn man die stärker abgeleiteten unter diesen Fällen mit GEITLER (1954) und HARDER (1958) als Oogoniogamie auffaßt, was — wie unten gezeigt wird — berechtigt ist, so fragt es sich, wie man die männlichen Kopulationspartner deuten soll; streng genommen müßte man sie als Spermatogone auffassen, womit man den natürlichen Verhältnissen jedoch wohl nicht gerecht wird. Wie man diese Frage auch entscheiden mag, es zeigt sich jedenfalls recht deutlich, daß zwischen den Arten mit Oogoniogamie und solchen mit unbehäuteten Gameten deutliche Beziehungen bestehen. So werden bei *Chl. praecox* vom Beginn der Kopulation zwischen den „behäuteten Spermien" und den „behäuteten Makrogameten" (diese teils mit, teils ohne Geißeln, Vereinigung von den angeblich stets nackten Plasmapapillen her) sehr rasch gallertige Hüllschichten rund um ihre Protoplasten bzw. rund um die junge Zygote abgeschieden (PASCHER 1943). PASCHER nimmt an, daß sie den Protoplasten des Spermiums aus seiner Wand heraus in den weiblichen Gameten schieben — sie würden also ähnlich wirken wie die Gallerthülle, die der Makrogamet von *Chl. suboogama* während des Austrittes aus dem Gametangium absondert; hier wie dort können sie so rasch entstehen, daß Teile des Protoplasten abgeschnürt zurückbleiben; auch kann bei *Chl. suboogama* die Kopulation schon einsetzen, während erst ein kleiner Teil des Makrogameten — vergleichbar den zur Zeit der Kopulation jedenfalls nackten Papillen bei *Chl. praecox* — aus dem Gametangium herausragt. In beiden Fällen wird die Wand des Makrogameten bzw. -gametangiums durch die Gallertproduktion abgehoben und abgesprengt und in beiden Fällen bildet sich die eigentliche Wand der Zygote erst innerhalb der Gallerthüllen. Verschieden ist nur der Zeitpunkt, zu dem die Gallertbildung einsetzt: bei *Chl. praecox* beginnt sie im Vergleich zu *Chl. suboogama* etwas verspätet.

Ähnlich wie *Chl. praecox* verhält sich *Chl. coccifera* GOROSCHANKIN mit dem Unterschied, daß die Makrogameten stets geißellos sind und beide Gameten oder — wenn man sie so nennen will — Gametangien Membranpapillen tragen, die zu Beginn der Befruchtung verschleimen. Bei *Chl. coccifera* var. *mesopyrenigera* geht die Kopulation nicht wie beim Arttypus von den Papillen her, sondern an beliebigen anderen Stellen unter lokaler Verschleimung der Oogonwand vor sich und diese wird durch

die Hüllen der Zygote nicht gesprengt, sondern nur gedehnt (SKUJA 1949); wie der Arttypus sich in diesem Punkt verhält, ist anscheinend nicht bekannt. Jedenfalls können *Chl. praecox* und *Chl. coccifera mesopyrenigera* wohl als Repräsentanten für alle bisher aufgefundenen oogoniogamen Arten gelten und sprechen die Analogien in der geschlechtlichen Fortpflanzung zwischen ihnen und *Chl. suboogama* dafür, daß es sich bei den „behäuteten Eiern" einfach um Eier handelt, die so wie bei manchen Fadenalgen bis zur Befruchtung im Oogon verbleiben.

Was die Spermien der genannten oogoniogamen Arten anlangt, so besitzen sie durchgehend nicht den Grad der Differenzierung, wie er für *Chl. pseudogigantea*, *Chl. suboogama* und die höheren Volvocinae *Pleodorina*, *Eudorina* und *Volvox* charakteristisch ist. — Hinsichtlich der Beschaffenheit der Makrogameten und des Befruchtungsvorganges schließt sich *Chl. suboogama* besonders eng an *Eudorina* an. Nach IYENGAR gleiten nämlich bei dieser die weiblichen Gameten knapp vor der Befruchtung aus der umgebenden dicken, gallertigen Wand heraus; sie behalten dabei ihre Geißeln. Die Befruchtung, die wohl MEYER und POCOCK (letztere zit. nach IYENGAR) zutreffender als IYENGAR schildern, spielt sich so ab, daß die Spermien in die weich gewordene Lagergallerte eindringen, die weiblichen Gameten umschwärmen, sie schließlich im vorderen Teil mit dem Perforatorium anbohren und dann seitlich mit ihnen verschmelzen. Die zunächst noch zwei Geißelpaare tragende Zygote sondert nach IYENGAR eine Gallerthülle und später eine dem Protoplasten eng anliegende feste Wand ab.

Während bei manchen *Chlamydomonas*-Arten und bestimmten Fadenalgen nach BOLD und nach FÖRSTER, WIESE und BRAUNITZER bzw. KÖHLER (1956, 1957) die Kopulation mit einer Verklebung der Spitzen und einer schraubigen Umwindung der Geißeln der beiden Gameten eingeleitet wird, kommt bei *Chl. suboogama* den Geißeln keine solche Funktion zu. Die Geißeln des weiblichen Gameten scheinen überhaupt funktionslos zu sein, und die der Spermien wirken nicht unmittelbar bei der Kopulation mit.

Diagnose

Chlamydomonas suboogama n. sp. — Cellulae ellipsoideae, ovoideae vel inverse ovoideae, 14—24 (27) μ longae, 10—20,5 (22,5) μ latae, flagellis binis corpori circiter aequilongis; membrana tenui, antice in papillam parvam provecta; chromatophoro poculiformi cum parte basali valde incrassata, submedianiter pyrenoide rotundo praedito; stigmate rubro elliptico supra medium locato; vacuolis contractilibus binis; nucleo in caverna chromatophori sito. Multiplicatio cellularum vegetativarum fit divisione succendanea in quattuor (etiam duas) cellulas filiales; cellulis filialibus e membrana cellulae matricalis diffluente liberatis. Propagatio sexualis heterogama uno microgametangio et

tribus macrogametangiis e contentu cellulae matricalis ortis et in gelatinam eiusdem cohaerentibus. Gametes masculini quaterni (interdum octoni) e spermatogonio orti, ovoidei vel guttulaeformes, biciliati, mobiles, cum perforatorio antico, stigmate et chromatophoro laterali luteo instructi. Gametes feminini globosi, singuli orti, e macrogametangiis liberati sed in gelatina cellulae matricalis et in sua propria gelatina inclusi, ciliis binis et stigmate praediti, sed ad locomotionem inapti; conceptio in gelatina. Zygota globosa, rubro-lutea, membrana firma, hyalina et laevi circumdata.

Hab. in aquis Horti Botanici Vindobonensis.

Zusammenfassung

In den ellipsoidischen bis leicht eiförmigen oder verkehrt eiförmigen Zellen von *Chlamydomonas suboogama* liegt der Protoplast der Zellwand eng an. Diese ist am Vorderende zu einer schwach abgesetzten kleinen Papille verdickt. Die Geißeln vegetativer Zellen sind mehr oder weniger körperlang. Der topfförmige, an der Peripherie unregelmäßig gelappte, gewöhnlich stärkereiche Chromatophor reicht bis an das Vorderende, sein massiver Basalteil bis über die Mitte der Zelle. Das Stigma befindet sich in der vorderen Zellhälfte.

Die vegetative Vermehrung erfolgt nach Rückbildung der Geißeln durch Zerlegung in vier zunächst tetraëdrisch angeordnete — seltener nur zwei — Tochterzellen (1. Teilungsebene nach Drehung des Protoplasten um 90° quer zur ursprünglichen Längsachse, Teilungsebenen des 2. Teilungsschrittes senkrecht aufeinander und parallel zur Längsachse).

Die geschlechtliche Fortpflanzung beginnt mit der Anheftung einer Gametangienmutterzelle an einem Substrat durch Ausscheidung einer Gallerthülle. Von den vier aus ihr entstehenden Tochterzellen werden mit absoluter Regelmäßigkeit drei zu weiblichen und eine zu einem männlichen Gametangium (als Hemmungserscheinung kommt auch die Bildung von nur zwei Tochterzellen, einem weiblichen und einem männlichen Gametangium, vor). Die weiblichen Gametangien, die jungen vegetativen Zellen gleichen, entlassen nach Aufreißen der Gametangienwand einen einzigen begeißelten, aber nicht zur Ortsveränderung befähigten kugeligen Makrogameten. In den Spermatogonien entstehen in der Regel vier (selten auch acht) nackte, im Endzustand orangegelb gefärbte Spermien (Teilungsvorgänge wie die vegetativer Zellen). Diese verlassen nach Verschleimung der Spermatogonwand ihre angestammten Gallertlager und dringen in fremde gallertumhüllte Gruppen ein; in diesen verschmelzen sie mit den bereits freien oder nun frei werdenden weiblichen Gameten an beliebigen Stellen von der Flanke her, nachdem sie deren Periplast mit ihrem Perforatorium durchstoßen haben. Die Zygoten setzen zunächst die vom Makrogameten eingeleitete Gallert-

bildung fort, bilden dann aber eine dicke, dem Protoplasten eng anliegende glatte Wand aus, verfärben sich orangerot und sinken schließlich in den Schlamm ab, wo sie offenbar bis zur nächsten, nur 3—4 Wochen währenden Vegetationsperiode im Frühjahr verharren. Palmelloide Zustände wurden nicht beobachtet.

Chlamydomonas suboogama kommt in ihrem sexuellen Verhalten der echten Oogamie von *Chl. pseudogigantea* sehr nahe und stimmt in vielen Punkten mit *Eudorina* weitgehend überein. Sie vermittelt weiters zwischen den oogoniogamen *Chlamydomonas*-Arten auf der einen Seite und den echt oogamen Chlamydomonaden und Volvocinae auf der anderen Seite.

Das Auffallendste an ihr ist die streng gesetzmäßige modifikative Geschlechtsbestimmung, durch die drei Schwestergametangien weiblich und das vierte männlich determiniert werden. Dafür sind offenbar nicht äußere, sondern wahrscheinlich in erster Linie innere, stoffliche Faktoren maßgebend.

Trotz Monözie wird anscheinend Fremdbefruchtung und damit die erbliche Variabilität in der Population gefördert.

Bei *Chlamydomonas pseudogigantea* kann die Ausbildung von Spermien unterbleiben; es entstehen dann Parthenosporen von gleichem Bau wie die Zygoten.

Literatur

Bold, H. C.: The morphology of *Chlamydomonas chlamydogama* sp. nov. Bull. Torrey Bot. Club **76**, 101—108 (1949). — Förster, H., L. Wiese u. G. Braunitzer: Über das agglutinierend wirkende Gynogamon von *Chlamydomonas eugametos*. Z. Naturforsch. **11b**, 315—317 (1956). — Geitler, L.: Echte Oogamie bei *Chlamydomonas*. Öst. bot. Z. **101**, 570—578 (1954). — Gerloff, J.: Beiträge zur Kenntnis der Variabilität und Systematik der Gattung *Chlamydomonas*. Arch. Protistenk. **94**, 311—502 (1940). — Harder, R.: Niedere Pflanzen. In Lehrbuch der Botanik für Hochschulen, 27. Aufl. Stuttgart: Gustav Fischer 1958. — Iyengar, M. O. P.: Fertilization in *Eudorina elegans* Ehrenberg. J. Indian Bot. Soc. **16**, 111—118 (1937). — Iyengar, M. O. P., and K. R. Ramanathan: On the structure and reproduction of *Pleodorina sphaerica* Iyengar. Phytomorphology **1**, 215—224 (1951). — Köhler, K.: Entwicklungsgeschichte, Geschlechtsbestimmung und Befruchtung bei *Chaetomorpha*. Arch. Protistenk. **101**, 223—268 (1956). — Neue Untersuchungen über die Sexualität bei *Dasycladus* und *Chaetomorpha*. Arch. Protistenk. **102**, 209—218 (1957). — Meyer, K. J.: Zur Kenntnis der geschlechtlichen Fortpflanzung bei *Eudorina* und *Pandorina*. Beih. bot. Zbl. Abt. A **53**, 421—426 (1935). — Pascher, A.: Die Süßwasser-Flora Deutschlands, Österreichs und der Schweiz. Heft 4: Volvocales. Jena: Gustav Fischer 1927. — Über geißelbewegliche Eier, mehrköpfige Schwärmer und vollständigen Schwärmerverlust bei *Sphaeroplea*. Beih. bot. Zbl. Abt. A **59**, 188—213 (1939). — Beiträge zur Morphologie der ungeschlechtlichen und geschlechtlichen Vermehrung der Gattung *Chlamydomonas*. Beih. bot. Zbl., Abt. A **62**, 197—220 (1943). — Skuja, H.: Drei Fälle von sexueller Reproduktion in der Gattung *Chlamydomonas* Ehrenb. Svensk bot. T. **43**, 586—602 (1949).

Dr. Elisabeth Tschermak-Woess,
Botanisches Institut der Universität Wien III/40, Rennweg 14 (Österreich)

Planta, Bd. 52, S. 623—628 (1959)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Tübingen

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DAS AUXIN DER MAISKOLEOPTILE

Von

J. Reinert und E. Forstmann

Mit 2 Textabbildungen

(Eingegangen am 5. Dezember 1958)

In den letzten Jahren ist wiederholt die Frage aufgeworfen worden, ob außer der β-Indolylessigsäure (IES) und einer Reihe anderer Indolderivate auch nichtindolartige Auxine in höheren Pflanzen vorkommen und die gleichen Funktionen bei der Regulierung des Wachstums erfüllen können, welche diesen Indolkörpern zugeschrieben werden. Das Vorkommen nichtindolartiger Auxine in höheren Pflanzen ist vor allem von einer Arbeitsgruppe in Manchester (Housley und Bentley 1956; Britton, Housley und Bentley 1956) postuliert worden, die sich im wesentlichen darauf stützt, daß in der wäßrigen Phase von Ätherextrakten aus Tomatenwurzeln keine IES nachgewiesen werden konnte. Neuerdings berichtete diese Gruppe (Housley, Booth und Philipps 1956) über ein ähnliches Ergebnis mit Ätherextrakten aus Maiskoleoptilen, in denen weder im biologischen Testverfahren noch bei der Papierchromatographie IES festzustellen war; auf Grund dieses Befundes wurde auch für *Zea mays* das Vorkommen nichtindolartiger Auxine angenommen. Die Berechtigung dieser Schlußfolgerung ist schon auf Grund theoretischer Überlegungen bezweifelt worden (Reinert 1958); diese Zweifel werden durch die Ergebnisse der folgenden Untersuchung bestärkt.

Methode

Untersuchungsmaterial waren 96—100 Std alte etiolierte Maiskoleoptilen (gelber badischer Landmais der Badischen Saatzuchtgenossenschaft Karlsruhe), die 5 Std in Leitungswasser eingequollen und darauf in einem Torf/Sandgemisch bei 25° C und 90—95% relativer Luftfeuchtigkeit im Dunkeln gezogen worden waren. Nach Durchbrechen der Koleoptile kamen die Keimlinge 18 Std ins Rotlicht (Schott-Filter RG 2), um zu starkes Wachstum des Mesokotyls zu verhindern. Bei einer Koleoptillänge von etwa 5 cm wurde die Spitzenregion (etwa 1 cm) dekapitiert und jeweils 280—300 dieser Spitzen (5,8—6,3 g Frischgewicht bzw. 500—550 mg Trockengewicht) entweder sofort oder nach Gefriertrocknung mit peroxydfreiem Äther 4 Std bei 0—4° C extrahiert. Die in mehreren Fällen durchgeführte Auftrennung der Extrakte in eine saure und neutrale Phase erfolgte nach Neutralisation mit Natriumbicarbonatlösung (8% ≈ etwa 1 n) bzw. nach Ansäuern mit frisch angesetzter 2 n Weinsäure auf pH 2,8 (Larsen 1955).

Für die quantitative Bestimmung der Wuchsstoffe diente eine modifizierte Form des *Avena*-Segmenttests (Nitsch und Nitsch 1956) mit Siegeshafer I aus Svalöf. Bei der Papierchromatographie wurden die mit Äther aufgenommenen Extrakte nach der üblichen Methode auf Schleicher & Schüll-Papier (2043 b Mgl) zweidimensional aufsteigend im Dunkeln und bei 20° C chromatographiert. Die Zusammensetzung der Lösungsmittel war Isopropanol:Benzin:Wasser (55:30:15) in der ersten und Isopropanol:Wasser (80:20) in der zweiten Dimension. Zu den quantitativen Wuchsstoffbestimmungen wurden die Chromatogramme 20 min bei Zimmertemperatur getrocknet, in 25 Rechtecke aufgeteilt und diese mit Methanol extrahiert (Gordon und Paleg 1957). Die quantitative Bestimmung der eluierten Wuchs- bzw. Hemmstoffe erfolgte nach Einengen im Vakuum und daran anschließender Aufnahme in 2 ml 0,01 m Phosphatpuffer bei p_H 5.

Der bei den Versuchen verwendete synthetische Wuchsstoff war reine β-Indolylessigsäure (Merck), die anderen verwendeten Chemikalien waren p. a.-Substanzen der gleichen Firma.

Ergebnisse

Bei der zu Anfang erwähnten Arbeit von Housley, Booth und Philipps (1956) über das Auxin der Maiskoleoptile sind hauptsächlich die wasserlöslichen Fraktionen, daneben aber auch der ätherlösliche Anteil der Extrakte untersucht worden; in beiden Fällen konnte keine IES nachgewiesen werden. Wir haben uns bei unserer Untersuchung darauf beschränkt, die ätherlöslichen Substanzen in den Extrakten genauer zu überprüfen. Im *Avena*-Segmenttest ergab sich dabei für den unverdünnten Rohextrakt aus frischen Koleoptilspitzen keine Förderung, sondern nur eine starke Hemmung, die mit zunehmender Verdünnung des Extraktes jedoch abnahm und bei einem Verdünnungsgrad von 1:1000 den Wert der Wasserkontrolle erreichte. Den Verlauf dieser Hemmungskurve und die Kontrollkurve für reine IES zeigt Abb. 1A. Nach diesem Befund war damit zu rechnen, daß im Ätherextrakt Hemmstoffe vorliegen, die unter Umständen die Aktivität des gleichfalls vorhandenen Auxins maskieren konnten. Um diese Möglichkeit zu überprüfen, wurde, unmittelbar vor dem Test, den in Pufferlösung aufgenommenen Extrakten 10^{-5} g IES zugesetzt und dann Verdünnungen getestet, welche denen des Rohextraktes entsprachen. Auch dabei ergaben sich bis zu einer Verdünnungsstufe von 1:100 eindeutige Wachstumshemmungen, und erst bei stärkeren Verdünnungen waren signifikante Wachstumsförderungen feststellbar (Abb. 1B und C). Es ist allerdings nicht sicher, ob diese Förderungen auf der Wirksamkeit freier IES beruhen. Auffallend sind noch Unterschiede der Wachstumshemmungen und -förderungen, die zwischen Rohextrakten und den sauren Phasen nach Abtrennung der neutralen Fraktion auftraten. Bei diesen teilweise gereinigten Extrakten verschob sich die Förderung des Wachstums um eine halbe Zehnerpotenz zu den höheren Konzentrationen hin, ein Effekt, der offenbar auf der Eliminierung von Inhibitoren bei der Verteilung zwischen saurer und neutraler Phase beruht. Außerdem sind

noch die gleichfalls bei diesen Versuchen festgestellten minimalen Verschiebungen der Förderungszone bemerkenswert, die bei Verwendung von Rohextrakten aus frischen bzw. lyophilisierten Koleoptilen nach Zusatz von 10^{-5} g IES zu beobachten waren (Abb. 1 B und C). Ob diese Unterschiede real sind oder ob sie auf einer geringen unterschiedlichen Reaktionsfähigkeit der Testobjekte beruhen, kann erst nach weiterer eingehender Untersuchung beurteilt werden.

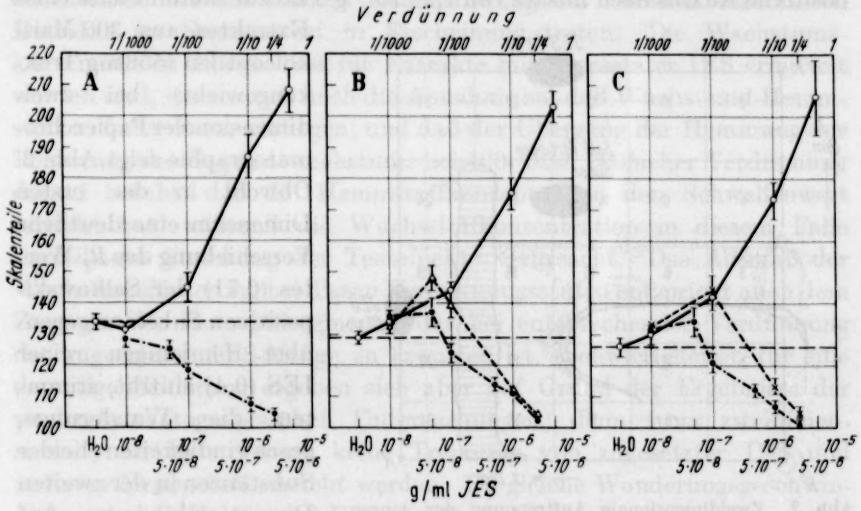


Abb. 1. Wachstumsbeeinflussung von *Avena*-Segmenten durch Ätherextrakte aus Maiskoleoptilen. *Abszisse:* Verdünnungsstufen der Extrakte bzw. IES-Konzentration der Kontrollkurve in g/ml. *Ordinate:* Zuwachs der *Avena*-Segmente in Skalenteilen (Ausgangslänge 100 Skalenteile). A = Rohextrakt ohne IES-Zusatz. o—o—o Kontrolle (reine IES). ●—●—● Extrakt. B = Gefriergetrocknete Spitzen mit Zusatz von 10^{-5} g IES. o—o—o Kontrolle (reine IES). ●—●—● Rohextrakt. △—△—△ saure Phase des gereinigten Extraktes. C = Vergleich der Rohextrakte aus frischen bzw. gefriergetrockneten Spitzen mit Zusatz von 10^{-5} g IES. o—o—o Kontrolle (reine IES). ●—●—● Extrakt aus gefriergetrockneten Spitzen. ×—×—× Extrakt aus frischen Spitzen. Zu jedem Meßpunkt ist der dreifache mittlere Fehler eingetragen worden

Papierchromatographische Untersuchungen der sauren und der neutralen Phase bestätigen zuerst einmal die Beobachtungen von Housley, Booth und Philipps, d. h., es konnte weder durch Farbreaktionen (Salkowski- und Ehrlich-Reaktion) noch im Biotest IES oder ein anderes ätherlösliches Auxin nachgewiesen werden. Demnach könnte man sich der Annahme dieser Autoren anschließen, daß nichtindolartige, wasserlösliche Auxine das Wachstum der Maiskoleoptile regulieren. Ergebnisse weiterer Versuche zeigen aber, daß auch noch andere Deutungsmöglichkeiten bestehen. Wurden nämlich der sauren Phase der Extrakte unmittelbar vor der chromatographischen Auftrennung IES-Mengen unter 10^{-5} g zugesetzt, so ließen sich auch diese weder mit Farbreaktionen noch nach der Elution des Chromatogramms im Biotest nachweisen. Erst nach

Zusatz von größeren IES-Mengen (1,2 bzw. $1{,}5 \cdot 10^{-5}$ g) ergaben sich auf den Papierchromatogrammen positive Salkowski- und Ehrlich-Reaktionen, die in ihrer Färbung der reinen IES entsprachen und deren Farbintensität ungefähr derjenigen einer Auxinmenge von 2 bzw. 5 γ entsprach. Im Biotest waren dann auch nach Elution der Chromatogramme die gleichen Auxinmengen ($2 \cdot 10^{-6}$ bzw. $5 \cdot 10^{-6}$ g) nachweisbar. Den chromatographischen Nachweis des Salkowski- und Ehrlich-positiven Auxins nach Zusatz von $1{,}2 \cdot 10^{-5}$ g IES zur sauren Phase eines Extraktes aus 300 Maiskoleoptilen (558 mg Trokkengewicht) bei zweidimensionaler Papierchromatographie zeigt Abb. 2. Obwohl in der ersten Dimension eine deutliche Verschiebung des R_f-Wertes (0,71) der Salkowski-positiven Substanz gegenüber demjenigen reiner IES (0,4) eintrat, stimmten die Wanderungsgeschwindigkeiten beider Substanzen in der zweiten Dimension überein. Auf Grund der Übereinstimmung des R_f-Wertes und der schon erwähnten Ergebnisse der Färbungsreaktionen und auch der quantitativen Auxinbestimmung kann also mit einiger Sicherheit angenommen werden, daß es sich bei dem in den Extrakten nach Zusatz von IES-Mengen über 10^{-5} g nachweisbaren Auxin um freie Indolylessigsäure handelt.

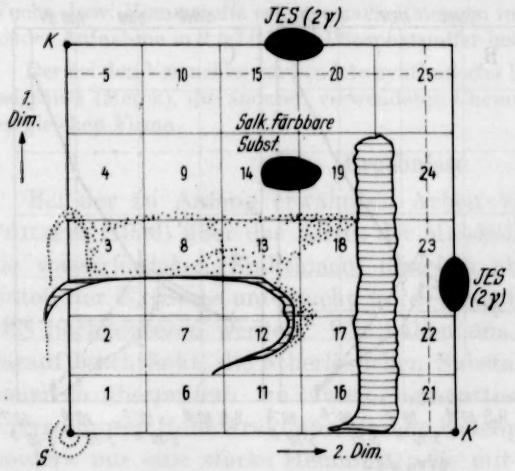


Abb. 2. Zweidimensionale Auftrennung der sauren ätherlöslichen Fraktion eines Extraktes aus 300 Koleoptilspitzen bei Zusatz von $1{,}2 \cdot 10^{-5}$ g IES. 1. Dimension: Isopropanol (55): Benzin (30): H_2O (15). 2. Dimension: Isopropanol (80): H_2O (20)

Diskussion

Der wesentlichste Punkt, der sich aus den eben beschriebenen Untersuchungen ergibt, ist der Nachweis eines IES-„verbrauchenden" Mechanismus in Ätherextrakten aus Maiskoleoptilspitzen. Bei einem Ausgangsmaterial von mehreren hundert Koleoptilen können auf diese Weise bis zu 10^{-5} g IES „verbraucht" oder maskiert werden. Damit ist auch eine Erklärungsmöglichkeit dafür gegeben, warum in den gleichen Extrakten kein natives Auxin feststellbar war; denn selbst wenn man die Menge des ätherextrahierbaren Auxins einer Maiskoleoptile mit rund $5 \cdot 10^{-9}$ g um eine Zehnerpotenz höher ansetzt als diejenige von einer *Avena*-Koleoptile (Reinert 1950), kann bei 300 Koleoptilen nur mit

$1{,}5 \cdot 10^{-6}$ g nativem Auxin gerechnet werden, die nach den Erfahrungen mit der IES ohne weiteres in den Ätherextrakten dem Nachweis entzogen werden können.

Über die Art des Mechanismus, der das Verschwinden der Wuchsstoffe bedingt, kann auf Grund der bisherigen Ergebnisse nur wenig Definitives ausgesagt werden. Bis jetzt steht nur eindeutig fest, daß die Koleoptilen äußerst wirksame saure Hemmstoffe enthalten, die am deutlichsten bei der starken Hemmwirkung der schwach verdünnten Extrakte im Segmenttest in Erscheinung treten. Die Wachstumskurven, die in diesem Test für Extrakte mit zugesetzter IES ermittelt worden sind, lassen auch noch die Annahme zu, daß Wuchs- und Hemmstoff in freier Form vorliegen, und daß der Übergang der Hemmung zur Förderung des Segmentwachstums bei 100- bzw. 200facher Verdünnung darauf beruht, daß die Hemmstoffkonzentration den Schwellenwert erreicht hat, während die Wuchsstoffkonzentration in diesem Falle signifikante Streckung der Testobjekte verursacht. Das Ausmaß der Wachstumsförderung bei diesen Verdünnungsstufen entspricht auch dem Zuwachs der Koleoptilsegmente, der bei entsprechender Verdünnung der zugesetzten IES-Menge zu erwarten ist. Schwierigkeiten für eine derartige Erklärung ergeben sich aber auf Grund der Ergebnisse der papierchromatographischen Untersuchungen; denn trotz zweidimensionaler Methode konnte keine Trennung von zugesetzter IES und nativem Hemmstoff erreicht werden. Da gleiche Wanderungsgeschwindigkeiten der Wuchs- und Hemmstoffe in beiden Dimensionen unwahrscheinlich sind, kann nicht ausgeschlossen werden, daß das Auxin an den Hemmstoff selbst oder an eine andere Komponente in den Extrakten gebunden ist und dann nicht mehr nachgewiesen werden kann. Analoge Prozesse, die allerdings unter anderen Bedingungen ablaufen, sind schon bei Versuchen mit Maisscutellum-Präparaten beschrieben worden (Pohl und Tegethoff 1949). Auch in diesem Falle wurde zugesetzte synthetische IES dem Nachweis im Biotest entzogen und deren Effekt durch Koppelungsvorgänge erklärt, über deren Natur aber nichts Sicheres bekannt ist (Tegethoff 1951). Wenn hier auf die Gleichartigkeit dieser Prozesse hingewiesen wird, so soll damit nicht ihre Identität postuliert werden; denn bei unseren Ergebnissen bleibt die Frage offen, wie es bei stärkerer Verdünnung der Extrakte mit maskierter IES zu den eindeutig festgestellten Wachstumsförderungen im Segmenttest kommt.

Zur Frage des Vorkommens von IES in Maiskoleoptilen lassen unsere Ergebnisse allerdings einige weitergehende Schlußfolgerungen zu. Sowohl aus unseren Resultaten als auch aus denjenigen von Housley, Booth und Philipps (1956) kann weder das Fehlen der IES noch das Vorhandensein dieses Auxins in ungereinigten Ätherextrakten aus Mais-

koleoptilen abgeleitet werden. Solange aber keine eindeutigeren Befunde über die Natur des Auxins dieser Koleoptilen vorliegen, kann man auf Grund unserer Befunde nicht aus dem fehlenden Nachweis der IES auf das Vorkommen nichtindolartiger Auxine schließen, sondern es muß abgewartet werden, bis sich mit verbesserten Methoden eindeutigere Ergebnisse mit äther- und wasserlöslichem extrahierbarem Material ergeben. In diesem Zusammenhang muß auch ein weiterer Befund erwähnt werden. Erst vor kurzem berichteten Hamilton und Bandurski (1958) ebenfalls, daß sie in der sauren Fraktion von Ätherextrakten aus größeren Mengen („kilogramm quantities") von Maiskeimlingen weder freie noch gebundene IES feststellen konnten. Da aber das Mengenverhältnis von nativem Auxin zu IES-bindendem Prinzip auch bei Vermehrung des Extraktionsmaterials konstant bleiben muß, sollte auch dieses negative Ergebnis nicht im Sinne von Housley, Booth und Philipps gedeutet werden.

Summary

By means of the *Avena* section test in conjunction with paper chromatography very efficient growth inhibiting substances of acid nature, but no native auxins, could be demonstrated in ether extracts of Zea mays coleoptile tips. However it was possible to show that in the same extracts as much as 10^{-5} g of added IAA was no longer demonstrable by either method. The significance of these results for the evaluation of recent findings on the nature of auxins in Zea mays seedlings is discussed.

Literatur

Britton, G., S. Housley and J. A. Bentley: J. exp. Bot. **7**, 239 (1956). — Gordon, S. A., and L. G. Paleg: Physiol. Plantarum (Cph.) **10**, 39 (1957). — Hamilton, R. H., and R. S. Bandurski: Plant. Physiol. **33**, Suppl. V (1958). — Housley, S., and J. A. Bentley: J. exp. Bot. **7**, 219 (1956). — Housley, S., A. Booth and D. J. D. Philipps: Nature (Lond.) **178**, 255 (1956). — Larsen, P.: In: Moderne Methoden der Pflanzenanalyse, Bd. III, S. 565—625. Berlin: Springer 1955. — Nitsch, J. P., and C. Nitsch: Plant. Physiol. **31**, 94 (1956). — Pohl, R., u. B. Tegethoff: Naturwiss. **36**, 319 (1949). — Reinert, J.: Z. Naturforsch. **5b**, 374 (1950). — Fortschr. Bot. **20**, 257 (1958). — Tegethoff, B.: Planta (Berl.) **38**, 648 (1951).

Dr. J. Reinert,
Tübingen, Botanisches Institut der Universität

Planta, Bd. 52, S. 629—643 (1959)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Rostock

STUDIEN ÜBER DIE ANLAGE DER ACHSELKNOSPEN UND BLATTPRIMORDIEN BEI GRAMINEEN

Von

HELMUT PANKOW und HERMANN v. GUTTENBERG

Mit 20 Textabbildungen

(Eingegangen am 1. Dezember 1958)

1. Einleitung und Problemstellung

Die Entstehung der *Achselknospen* bei den Gramineen ist schon wiederholt untersucht worden. Auf ältere Literatur hat SHARMAN (1945) hingewiesen. Eine ausführliche Studie an *Triticum vulgare* verdanken wir RÖSLER (1928). Nach ihm „bilden die Achselknospe und ein Teil des über ihr, aber auf der entgegengesetzten Seite des Vegetationspunktes inserierten Blattes auf ersten Entwicklungsstadien einen gemeinsamen Höcker". KLIEM (1936) bestätigt dies für *Avena sativa*. Seine Ausführungen hierüber bedürfen jedoch einer Revision und einiger wesentlicher Ergänzungen. Zum besseren Verständnis muß hier darauf hingewiesen werden, daß die Blattanlagen bei den Gräsern bald die ganze Achse umfassen. Die Achselknospe entspringt somit da, wo sich der Scheidenteil des nächst höheren Blattes schließt. Wir wollen diese Seite als Scheidenrand oder ventrale Scheidenseite bezeichnen. Neue Gesichtspunkte wurden durch SHARMAN beigebracht, der die Achselknospenentwicklung von *Zea Mays* (1942) und *Agropyron repens* (1945) genauer studierte. Er schreibt (1942) im Zusammenhang mit der Internodienbildung: „It is as though there were an expansion of the whole of the lower half of the primordium and the enclosed axis." Nach ihm wäre also die Achse von den Blattbasen „enclosed", d. h. berindet. Da nun auch bei *Zea Mays* die Achselknospeninitialen an der Basis des jeweils folgenden Primordiums liegen, schreibt SHARMAN weiter: „Thus the axillary bud seems so be associated with the leaf above and its continued marginal growth, and not with the leaf in whose axil it appears." Der Einfluß des interkalaren Meristems auf die definitive Stellung der Achselknospe ist sonst in allen erwähnten Arbeiten kaum oder gar nicht berücksichtigt worden und bedarf einer weiteren Untersuchung, zumal schon RAUNKIÄR (1895/99, zit. bei KULLMANN 1957) am Beispiel von *Molinia coerulea* MOENCH. auf eine Verwachsung von Seitensproßanlage und Hauptachse aufmerksam machte. Bei diesem Gras soll die Achselknospenanlage bis fast unter der Insertion der nächst folgenden Blattspreite emporrücken. Ausführliche Angaben über die Achselknospenentstehung bei *Sinocalamus Beecheyana* macht Hsü (1944)

Nach ihm können die Initialen des Seitentriebes bei ein und derselben Pflanze in der zweiten, dritten oder vierten subdermatogenen Schicht auftreten, je nachdem, wieviel „Tunicaschichten" am Sproßvegetatationspunkt vorhanden sind.

Der Zweck der vorliegenden Untersuchung war in erster Linie, die Entwicklung der Achselknospenanlage bei *Avena sativa* genauer zu studieren, um Vergleiche mit den Verhältnissen bei *Triticum vulgare*, *Sinocalamus Beecheyana* und *Agropyron repens* anstellen zu können. Ein besonderes Augenmerk richten wir dabei auf die Art der Verwachsung der Achselknospenanlage mit dem Muttertrieb. Zur Ergänzung wurden auch Schnitte von *Molinia coerulea* überprüft.

Indessen brachten auch die Untersuchungen über die *Blattanlage* bei den Gramineen bisher keine einheitlichen Ergebnisse. In den weitaus meisten Fällen konnte die Beteiligung der ersten subepidermalen Schicht des Vegetationskegels am Blattaufbau nachgewiesen werden (KLIEM 1936, HSÜ 1944, SHARMAN 1945, HAMILTON 1948, THIELKE 1951, HOLT 1954, LEDIN 1954 u. a.), gleichgültig, ob diese Schicht als „zweite Tunicaschicht", z. B. bei *Sinocalamus Beecheyana*, oder als „Korpusschicht A", z. B. bei *Agropyron repens*, angesprochen wird (s. später). Nur zwei Ausnahmen sind bisher bekannt geworden. So schildert RÖSLER (1928) die Blätter von *Triticum vulgare* als nur aus dem Dermatogen entstanden, was ROTH (1957) bestätigt. Dasselbe berichtet THIELKE (1951) für *Panicum palmifolium*. Überraschenderweise schreibt diese: „Bei *Panicum palmifolium* begegnet uns endlich die von den Gräsern sonst gewohnte Struktur des Vegetationskegels mit einer einschichtigen Tunica, die nur zur Blattbildung aufspaltet und für die Blattentwicklung allein verantwortlich ist." Für die letzte Behauptung gibt es doch nur die Angaben von RÖSLER und ROTH, denen viele andere entgegenstehen. Da solche Ausnahmen völlig vom normalen Verhalten der Angiospermen abstechen würden, zum anderen keinesfalls alle von RÖSLER beigebrachten Abbildungen die Beteiligung der „Korpusschicht A" am Blattaufbau eindeutig ausschließen, war eine Nachuntersuchung der Primordienbildung von *Triticum vulgare* notwendig geworden. Allerdings wurde schon von BARNARD (1955) nachgewiesen, daß sich sowohl bei den Laubblättern, als auch bei anderen Blattorganen von *Triticum vulgare*, z. B. den Spelzen, den Lodiculae und Karpellen die hypodermale Schicht mitbeteiligt. BARNARD untersuchte aber nur die florale Region mehrere Wochen alter Pflanzen, deren Vegetationspunkt nach ihm eine zweischichtige „Tunica" besitzt. Am Vegetationspunkt der Keimpflanzen ist die „Tunica" jedoch einschichtig[1]. Diese Tatsachen veranlaßten uns,

[1] Die Zahl der „Tunicaschichten", die nach BROWN, HEIMSCH und EMERY (1957) bei den Gramineen eine systematische Bedeutung haben soll, variiert bei den Festucoideae, gewöhnlich aber sind es zwei.

die Untersuchungen an der Keimpflanze von *Triticum vulgare* HOST (= *T. aestivum* L.) zu wiederholen. Ferner untersuchten wir 3 Monate alte Keimpflanzen von *Molinia coerulea* MOENCH., die dann erst 4—5 cm Länge maßen. Auch Längsschnitte durch Überwinterungsknospen ausgewachsener *Molinia*-Rasen wurden studiert. Bei *Sorghum vulgare* L. beschränkten wir uns auf die Durchsicht früher angefertigter Schnitte (PANKOW und v. GUTTENBERG 1957). Auch die weitere Behandlung der Objekte erfolgte nach den dort angegebenen Methoden. Die Schnittdicke betrug 5 μ.

2. Eigene Untersuchungen

a) Die Anlage der Achselknospe. Nach RÖSLER (1928) und KLIEM (1936) erfolgt die Achselknospenanlage bei den von ihnen untersuchten Gramineen schon sehr frühzeitig. Sowohl *Triticum vulgare* als auch *Avena sativa* besitzen an Keimpflanzen nur ein abgegrenztes Dermatogen, also nach der Buderschen Nomenklatur eine einschichtige Tunica; die beiden folgenden Korpusschichten werden mit A und B benannt. RÖSLER bezeichnet bei *Triticum* lokale perikline Teilungen in der „Korpusschicht B" schon dann als Achselsproßanlage, wenn sich die dorsale Blattlippe des darüberstehenden Blattes erst durch eine leichte Vorwölbung periklin gespaltener Dermatogenzellen verrät (vgl. seine Abb. 13, Tafel II). KLIEM greift bei *Avena* noch weiter voraus und spricht perikline Teilungen in der „Korpusschicht B" schon zu einem Zeitpunkt als Achselsproßanlage an, wo sich das darüberstehende Blatt erst durch eine perikline Wand in einer Dermatogenzelle andeutet. KLIEM ist in seinen Ausführungen indessen vorsichtig und meint, es wären in dem abgebildeten Schnitt „noch 2 jüngere Anlagen getroffen, a und b, oder wenigstens, wenn man diese Stadien noch nicht als Anlagen gelten lassen will, jene Zellkomplexe, die Material für die Knospen liefern". KLIEM hat mit dieser Einschränkung sicher das Richtige getroffen, denn, wie die Nachuntersuchung von *Avena sativa* zeigte, sind solche gruppenweise gehäuften periklinen Teilungen an diesen Orten und zu diesem Zeitpunkt nicht regelmäßig nachzuweisen. Diese Forderung muß aber erfüllt sein, wenn wir hier von dem Beginn der Achselknospenbildung sprechen wollen. Perikline Teilungen sind früher oder später in allen Teilen der dritten Schicht (= „Korpusschicht B") aufzufinden (Abb. 1)[1]. Sie stehen im Zusammenhang mit dem Erstarkungswachstum des Vegetationspunktes. Erst später, wenn sich der Scheidenrand des Blattes, an dessen Basis sich die Achselknospe ausbildet (das Blatt, in dessen Achsel die Knospe steht und dem der Seitensproß infolgedessen zugehört, liegt ja um ein Internodium tiefer), deutlich vorgewölbt hat, häufen sich in der Blattbasis die periklinen Teilungen in den Abkömmlingen der dritten

[1] Vgl. hierzu Fig. 4, *A* und *B*, bei SHARMAN (1945) von *Agropyron repens*.

Schicht („Korpusschicht B") (Abb. 2). Zu dieser Zeit liegt dann am Grunde des eben entstandenen Höckers eine wechselnde Zahl achsenparallel gestreckter Zellen in mehreren Lagen nebeneinander. Die äußerste dieser Schichten erfährt eine noch stärkere Teilungsförderung, jedoch erst dann, wenn sich der ventrale Scheidenteil des Blattes erheblich gestreckt hat. Hierin gleicht der Entwicklungsmodus von *Avena sativa* dem von *Agropyron repens*. SHARMAN (1945) schreibt hierüber: „The cells at the outside of the central files seem to have divided more actively and

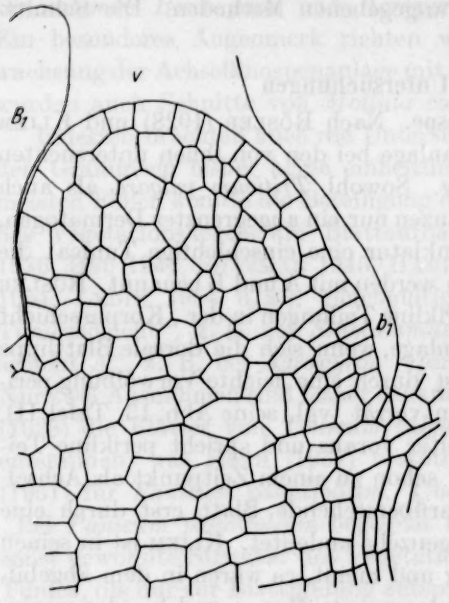


Abb. 1. *Avena sativa* L. Anlage des ventralen Scheidenteils eines Blattes. B_1 Dorsalseite, b_1 Ventralseite, *V* Vegetationspunkt

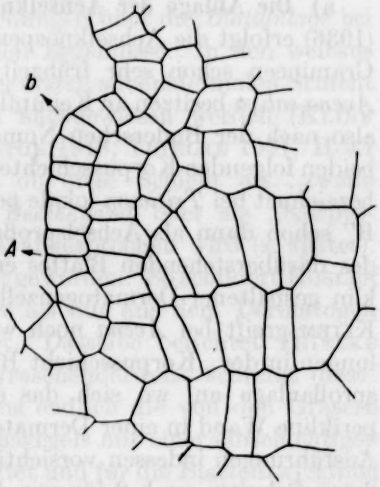


Abb. 2. *Avena sativa* L. Ventraler Scheidenteil des zweitobersten Blattes *b* mit Achselknospenanlage *A* an der Basis

are often smaller . . . They are presumably the future initials of the subhypodermis and core of the bud axis."

Bei *Triticum vulgare* können diese Initialen nach RÖSLER aus Abkömmlingen der „Korpusschicht B", aber auch aus solchen der „Korpusschicht A", hervorgehen. Im zweiten Fall liefern innere Abkömmlinge der Schicht A die Initialen des Seitensprosses. Ob hier aber nicht überhaupt ein Irrtum, der leicht durch eine falsche Grenzziehung zwischen den Descendenten der „Korpusschichten A und B" entstehen kann, vorliegt, scheint uns durchaus möglich zu sein. Andererseits geht aus den Ausführungen HSÜS (1944) hervor, daß die Achselknospen der Gramineen aus verschiedenen Schichten des Sproßvegetationskegels hervorgehen können. So treten ihre Initialen bei *Sinocalamus Beecheyana* in der ersten, zweiten oder dritten subepidermalen Schicht auf, in Abhängigkeit davon, wie viele „Tunicaschichten" am Vegetationskegel

vorhanden sind. Aber immer sind es die äußersten Abkömmlinge der betreffenden, periklin gespaltenen Schicht, die zu den Initialen werden, ganz wie bei *Avena*. Im Gegensatz zu dieser ist es bei *Sinocalamus Beecheyana* aber immer die äußerste „Korpusschicht", in der die Achselknospe angelegt wird und nicht erst die Schicht B.

Durch tangentiale Teilungen entstehen bei *Avena sativa* nach eigener Beobachtung aus der dritten Schicht zunächst kurze genetische Zellreihen, die das Subdermatogen (die „Korpusschicht A") und das Dermatogen leicht nach außen drängen (Abb. 3 und 4).

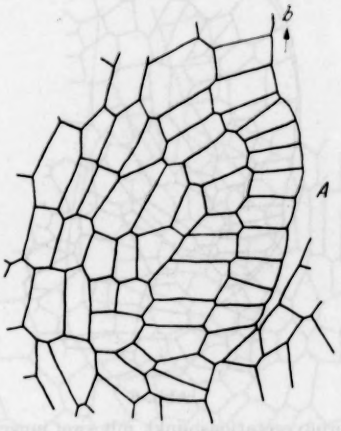


Abb. 3

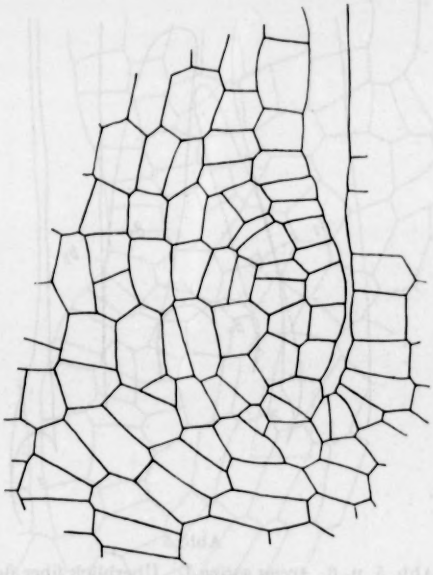


Abb. 4

Abb. 3 u. 4. *Avena sativa* L. Anlage der Achselknospe *A*

Im Subdermatogen sind auf diesem Stadium nur ausnahmsweise perikline Wände zu finden. Die Zahl der bei der Hervorwölbung der zwei äußeren Schichten beteiligten genetischen Reihen ist nicht immer die gleiche, doch sind es gewöhnlich drei.

Die Abb. 5 gibt eine Übersicht über die Größenverhältnisse der Blätter an der Hauptachse und der Achselknospen zueinander. Der ventrale Scheidenteil b_3 ist bereits 480 μ lang, und trotzdem erhebt sich die an seiner Basis entstandene Achselknospe, die in der Abb. 6 vergrößert wiedergegeben ist, erst 24 μ über den Achsenrand. Die Knospenanlage bleibt also beträchtlich hinter dem Wachstum der Blätter zurück, die ja fast gleichzeitig mit ihr von der Achse angelegt wurden. Bei *Triticum vulgare* und *Agropyron repens* eilen die Blätter nicht so sehr in ihrer Entwicklung voraus.

An der Abb. 6 sind durch die rege perikline Teilungstätigkeit bereits 5—6zellige Reihen entstanden und in der Abb. 7 verrät sich der Anlageort

des ersten Blattes am Achselsproß schon durch eine Vorwölbung des Dermatogens, und immer noch zeigt die „Korpusschicht A" keine periklinen Wände.

Das so entstandene Bild erinnert bis zu einem gewissen Grade an die Seitensproßbildung bei *Equisetum* (JANCZEWSKI 1876). Die scheinbar endogen entstandene Achselknospe ist von zwei Zellenlagen überwallt. Während es sich aber bei *Equisetum* zweifellos um die Blatt-

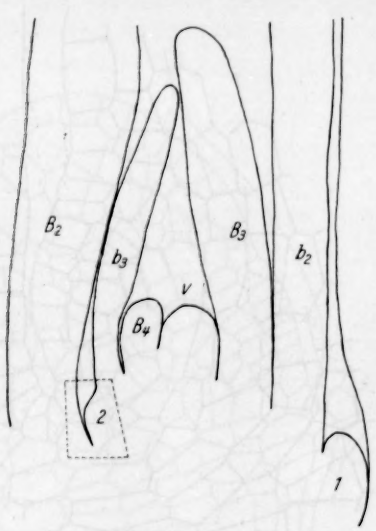


Abb. 5

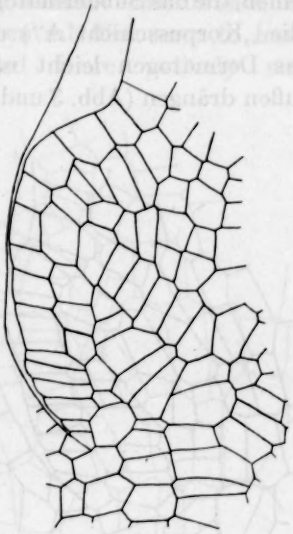


Abb. 6

Abb. 5. u. 6. *Avena sativa* L. Überblick über den Sproßvegetationspunkt mit zwei jungen Achselknospen. Achselknospe *2* stärker vergrößert. *B* die Dorsalseiten und *b* die Ventralseiten der Blätter, *V* Vegetationspunkt

scheiden handelt, die später vom Achselsproß durchbohrt werden, ist dies für die Gramineen nicht ohne weiteres zu folgern, wenn auch die Anfangsstadien der Entwicklung diese Annahme zunächst möglich erscheinen lassen. In Abb. 8 sind durch perikline Teilungen der äußeren Schichten, die von der dritten Zellschicht („Korpusschicht B") abstammen, vier genetische Zellreihen entstanden, die das Dermatogen und das Subdermatogen („Korpusschicht A") leicht vorwölben. Dieses hat sich auch hier periklin geteilt. Diese Achselknospenanlage liegt direkt unter der Insertion des ventralen Scheidenteils des nächst oberen Blattes. Das Innere der ventralen unteren Blattscheidenbasis ist durch Zellen ausgefüllt, die durch Teilung der zweiten Zellschicht entstanden sind (Abb. 8). Das Blatt wird also von den beiden gleichen Zellschichten erzeugt, die den inneren Kern der jungen Achselknospe überwallen. Da zudem das Blatt und die Achselknospenanlage unmittelbar benachbart sind und in den allerersten Stadien ihrer Entwicklung sogar einen

gemeinsamen Höcker bilden, könnte man tatsächlich zu der Annahme kommen, daß der Achselsproß von *Avena sativa* von Blattmaterial berindet ist. Indessen liegen die Verhältnisse offenbar anders und werden durch die besonderen Verhältnisse der Gramineenblattbildung bewirkt. Dadurch, daß die Blattprimordien die Achse völlig einschließen und dichtgestellt distich entstehen, wird der Raum, in dem es normalerweise zur Achselknospenbildung kommt, von der ventralen Basis des nächstfolgenden Blattes eingenommen. Erst bis sich diese streckt, kann die Achselknospe

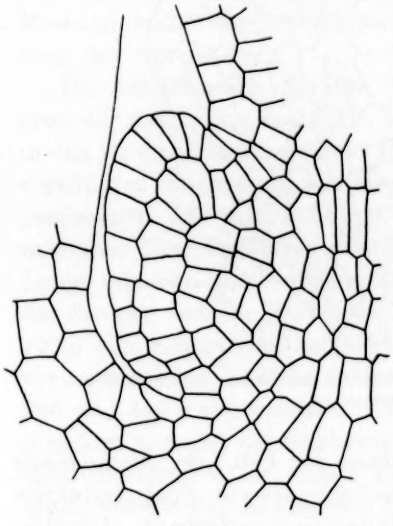


Abb. 7

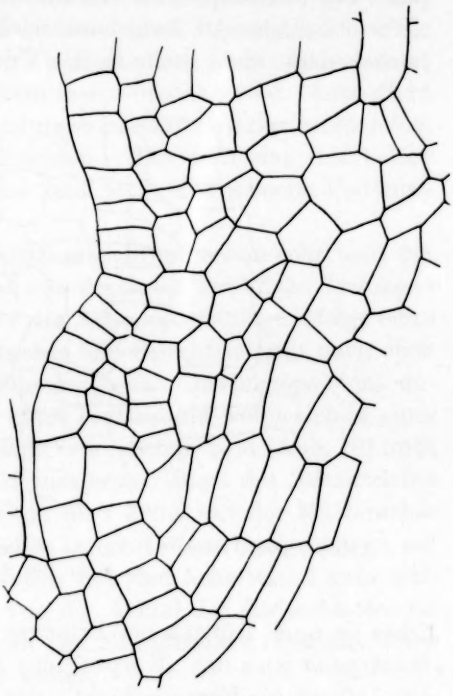


Abb. 8

Abb. 7. u. 8. *Avena sativa* L. Junge Achselknospen

frei hervortreten, wobei sich, wie wir sahen, auch die subepidermale Schicht periklin teilt. Die Achselknospe entsteht also keinesfalls endogen, sondern wird aus den peripheren Schichten der Achse erzeugt und kann sich erst dann entwickeln, wenn Raum dafür geschaffen ist. In der Tat werden die *oberen* Zellen des Gesamthöckers bei der Blattbildung verbraucht, während die *unteren* den jungen Achselknospenhöcker bekleiden und hier in der erwachsenen Seitensproßanlage für die Bildung der Blätter verantwortlich zu machen sind. Bei den Achselknospen von *Agropyron repens* u. a. geht das gesamte „Knospenkorpus" aus den Abkömmlingen der „Korpusschicht B" („subhypodermal layer") hervor. Darüber liegen ungespalten das Dermatogen und das Subdermatogen. Die Blätter des Seitentriebes entstehen dann aus dem

Dermatogen und dem „Hypoderm". Da das Fehlen perikliner Teilungen im Subdermatogen („Korpusschicht A") aber nicht bei allen Gramineen eingehalten wird, können auch hieraus keine Beweise für eine Theorie der Berindung entnommen werden. Bei *Avena sativa* beginnt, wie wir sahen, schon in Abb. 8 eine perikline Aufspaltung des Subdermatogens. Auch aus den Ausführungen KLIEMS (1936) geht hervor, daß das „Korpus" des Achselsprosses bei *Avena* durch wiederholte Teilungen der „Korpusschicht A" aufgebaut wird. „Die Reihen der Schiebezellen reichen dann nicht mehr in das Urmeristem des Kegels hinein." Ähn-

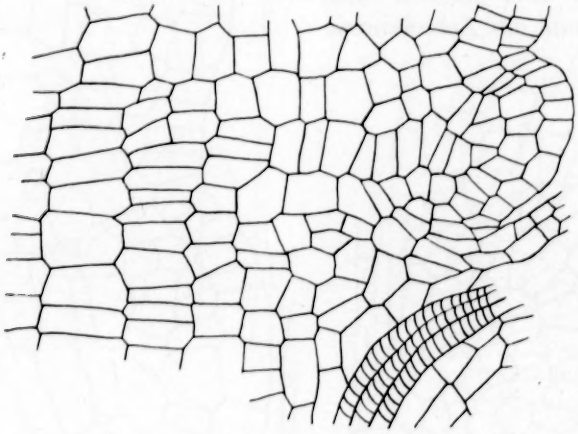


Abb. 9. *Avena sativa* L. Anlage des interkalaren Meristems in der Achse in Höhe der Achselknospe

liches ist nach RÖSLER bei *Triticum vulgare* der Fall. Bei *Sinocalamus Beecheyana* wird das „Korpus" des Achselsprosses von Spaltprodukten der äußersten „Korpusschicht" der Hauptachse aufgebaut. Darüber liegen nach wie vor eine im einzelnen verschiedene Anzahl von „Tunicaschichten". Die hypodermale Schicht („Korpusschicht A" oder „zweite Tunicaschicht") der Hauptachse wird in vielen Fällen nur zum Aufbau der Blätter am Seitentrieb herangezogen, zuweilen aber nimmt sie darüber hinaus nicht unwesentlich an der Ausgestaltung des Seitentriebes teil. Im ersten Fall bleibt sie länger unaufgespalten und dadurch kann eine endogene Entstehung der Seitentriebe vorgetäuscht werden.

Wenn die Achselknospen in ihrer Entwicklung das in Abb. 7 wiedergegebenene Stadium erreicht haben, erfährt das Längenwachstum der Hauptachse durch die nun beginnende Ausbildung der Internodien eine ausgiebige Förderung. In allen Teilen der Achse vermehren sich jetzt die antiklinen Teilungen, wodurch besonders im Mark geordnete Zellzüge gebildet werden (Abb. 9). An diese achsenparallel verlaufenden Zellreihen schließen sich in der Abb. 9 seitlich solche mit vorwiegend

perikliner Teilung an. Diese Reihen treten in den zentralen Teil des Achselknospenhöckers ein. Darunter jedoch finden sich Zellen, die die antikline Teilungsrichtung bevorzugen. Sie stellen die Fortsetzung des interkalaren Meristems bis an die Peripherie der Achse dar. In den Rindenteilen der Grasinternodien wird das interkalare Meristem nicht mit derselben Deutlichkeit wie in den zentralen Teilen der Achse ausgebildet. Während die Zellen hier senkrecht zur Achse verbreitert werden, strecken sich die Rindenzellen sehr schnell achsenparallel. Eine genaue Begrenzung des interkalaren Meristems nach oben oder unten ist nicht möglich, da noch alle Zellen stark meristematisch sind. Auch dicht über der Achselknospe sind nach und nach in immer stärker werdendem Maße antikline Teilungen zu beobachten. Hier tritt das interkalare Meristem besonders deutlich auf und leitet jetzt eine schnelle Verlängerung des Sprosses ein.

Die Achselknospe, die ihre Wachstumsrichtung schon sehr bald um etwa 45° nach oben verändert, wird nun durch die antiklinen Teilungen in den Rindenschichten direkt unter der Achselsproßanlage infolge eines vereinigten Wachstums von Hauptachse und Seitentrieb mit nach oben genommen. Die in der Abb. 6 wiedergegebene Achselknospe steht unmittelbar über der Insertionsstelle eines Blattes und wölbt sich in einer Länge von 90 μ aus der Hauptachse hervor. Schon bald (Abb. 10) mißt die Strecke von der Blattachsel bis zum ersten Blatt des Seitentriebes 120 μ (der Achselsproß ist jetzt schon über 320 μ mit der Mutterachse verwachsen), noch etwas später (Abb. 11) sind diese Entfernungen auf 320 und 480 μ angewachsen. Nachdem sich der Achselsproß ganz aufgerichtet hat und die Entfernung von der Achsel des Mutterblattes bis zum Blattansatz des ersten Blattes des Seitentriebes ebenfalls 480 μ mißt, wächst der Achseltrieb frei weiter.

Auch an älteren Achselknospen kann man durch die stärkere Anfärbung des Zellinhaltes und durch die Kleinheit der Zellen an der Peripherie des basalen Teiles deren meristematischen Charakter noch deutlich nachweisen. Die Zellen dieser Zone teilen sich besonders rege und führen so die Aufrichtung des Achselsprosses herbei. Bei *Molinia coerulea* ist diese basale Zone des Achseltriebes anscheinend besonders geordnet (Abb. 12). Darauf strecken sich die Zellen des basalen Teiles des Seitentriebes und kurz vor dessen Aufrichtung sind besonders im zentralen Teil des Achseltriebes die bekannten Zellformen eines geordneten Meristems zu erkennen, wie wir sie schon im interkalaren Meristem der Hauptachse antrafen.

Das Gewebe der Hauptachse in Höhe der jungen Achselknospe besitzt zunächst noch einen rein internodialen Charakter. Der eigentliche Knoten wird etwas weiter unten angelegt. Etwas später wird das Achsengewebe in Höhe der Achselknospe jedoch in geringem Maße in den

Knotenaufbau miteinbezogen, wie die nun hier auftretenden, quer zur Hauptachse orientierten Leitbündel zeigen.

Wie wir sahen, zeigen die Hauptachse und der junge Seitentrieb während einer kurzen Phase ihrer Entwicklung ein vereinigtes Wachstum. Diese Entwicklung ist bedingt durch die Entstehungsweise der Achselknospe aus den Achsenpartien an der Blattbasis des nächst folgenden Blattes. Zunächst verbreitert sich die Achselknospenanlage durch die Streckung der Hauptachse nicht unerheblich. Später richtet sie sich auf und ver-

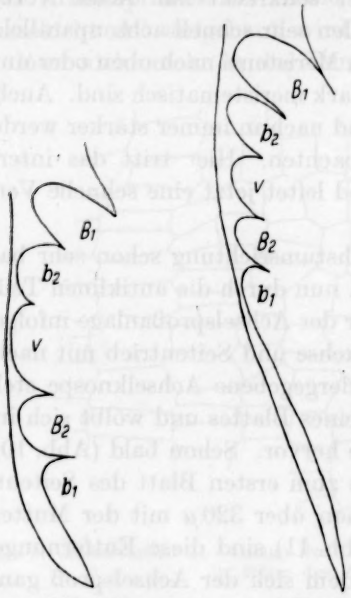


Abb. 10

Abb. 11

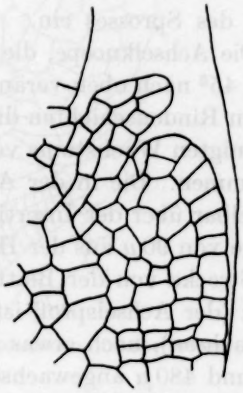


Abb. 12

Abb. 10 u. 11. *Avena sativa* L. Schematische Darstellung zweier Achselknospen. Durch die Tätigkeit des interkalaren Meristems streckt sich die Blattscheidenbasis. *B* die Dorsalseiten und *b* die Ventralseiten der Blätter, *V* Vegetationspunkt

Abb. 12. *Molinia coerulea* MOENCH. Junge Achselknospe

fügt so schon über ein basales Stück, welches mit der Hauptachse verwachsen ist. Da das im Haupttrieb auftretende interkalare Meristem aber auch noch in den basalen Teilen der Achselknospe tätig ist, wird die Knospe aus der Nähe der Blattachsel fortgerückt. Von einem echten kongenitalen Wachstum kann man aber hier nicht sprechen. Ein solches läge vor, wenn sich die Knospe direkt über der Blattachsel aufrichten würde und von hier aus über ein gewisses Stück mit dem Muttertrieb vereinigt wachsen würde. Dies wäre durch das Auftreten eines Leitbündels in dem der Achse angewachsenen Achselknospengewebe nachweisbar. Ein solches tritt aber, aus der Achse kommend, nicht von unten sondern von der Seite her in den jungen Achseltrieb ein.

Um diese Verwachsungserscheinungen noch näher studieren zu können, stellten wir Längsschnitte durch den Sproß von *Molinia coerulea*

her. Nach den Ausführungen KULLMANNs (1957), der bei dieser Pflanze ausdrücklich auf die Verwachsung der Seitensproßanlage mit dem Muttertrieb hinweist, erschien dieses Objekt für derartige Untersuchungen besonders lohnend.

Die Achselknospen von *Molinia coerulea* werden in der gleichen Weise angelegt, wie die von *Avena sativa*. Wir beschränken uns deshalb auf die einzige Abb. 13, die den Abb. 4 oder 6 von *Avena* entspricht. Auch später weist die Achselknospe von *Molinia* die gleiche Stellung auf, wie z. B. die Achselknospe 1 in der Abb. 5 bei *Avena*. Sie steht direkt unter

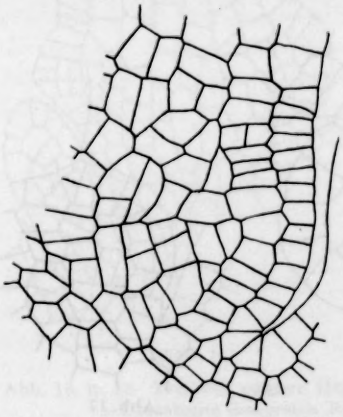


Abb. 13. *Molinia coerulea* MOENCH. Achselknospenanlage

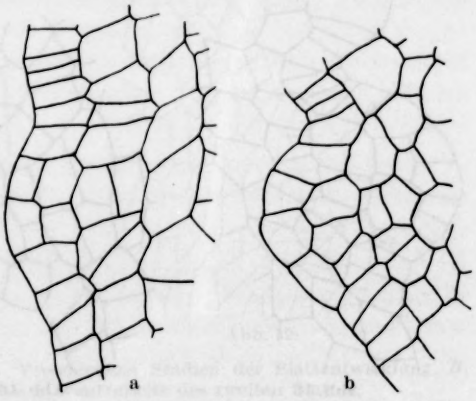


Abb. 14a u. b. *Avena sativa* L. Erste Stadien der Blattentwicklung

der Basis der ventralen Scheidenseite des nächstfolgenden Blattes. Es gelang uns nicht, Stadien aufzufinden, in denen der Achselsproß über eine weitere Strecke mit dem Muttertrieb verwachsen war.

Wie die Untersuchung RÜDIGERs (1939) lehrt, entstehen die Achselknospen von *Tradescantia virginica* (zwei „Tunicaschichten") in ganz derselben Weise wie die eines Grases. Am Grunde des Scheidenrandes drängen die aus den äußeren „Korpusschichten" entstandenen Zellreihen die beiden „Tunicaschichten" höckerartig vor. „Korpus" und „Tunica" des Achselsprosses gehen aus den entsprechenden Schichten des Hauptsprosses hervor wie bei *Sinocalamus Beecheyana*. Hieraus ergibt sich ein weiterer Beitrag für die Verwandtschaft der Gramineen mit den Commelinaceen.

b) Die Anlage des Laubblattes. Die Nachprüfungen, die die Anlage der Blätter bei den Gramineen betreffen, haben für *Avena sativa*[1] ergeben, daß sich die subdermatogene Schicht eindeutig am Aufbau der Blätter beteiligt, wie dies schon KLIEM (1936) schilderte. Schon frühzeitig, als

[1] Die „Tunica" ist einschichtig, wie dies schon KLIEM (1936) bemerkt. HAMILTON (1948) hatte eine zweischichtige „Tunica" festgestellt.

sich erst zwei oder drei Dermatogenzellen des Höckers periklin geteilt und etwas vorgewölbt haben, tritt in der Subepidermis zunächst eine perikline Teilung auf (Abb. 14a und b), bald folgen weitere (Abb. 15). Die daraus entstandenen Teilprodukte sind oft in deutlichen Reihen angeordnet (Abb. 16) und beteiligen sich bei der Hervorwölbung des schwach aufgespaltenen Dermatogens. Auch bei *Sorghum vulgare* drängen sich Zellen des Subdermatogens bei der Blattanlage in den Dermatogenhöcker vor und spalten sich periklin, so daß schon daraus ihre Beteiligung am Blattaufbau gefolgert werden kann (Abb. 17). Über

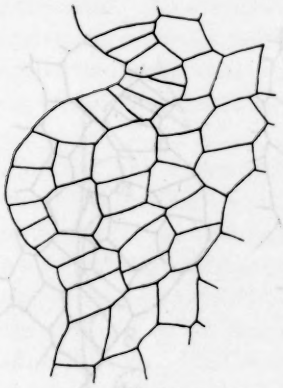


Abb. 15

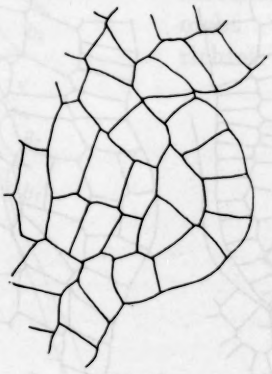


Abb. 16

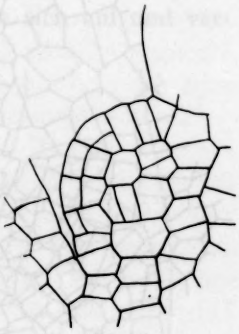


Abb. 17

Abb. 15 u. 16. *Avena sativa* L. Junge Blatthöcker im Längsschnitt
Abb. 17. *Sorghum vulgare* L. Junger Blatthöcker im Längsschnitt

die späteren Stadien bei *Sorghum* vgl. PANKOW und v. GUTTENBERG (1957). Bei *Triticum vulgare* ist die Beteiligung der subdermatogenen Schicht beim Aufbau der Blätter in der Tat weit schwieriger nachzuweisen. Es bedarf einer großen Reihe von Schnitten, um solche Stadien, wie sie die Abb. 18 zeigt, zu erhalten. Sehr auffällig ist nun, das zeigt sich auch an anderen Schnitten, daß bei der Primordienbildung auch in den unter dem aufgespaltenen Dermatogen liegenden subepidermalen Zellen perikline Wände auftreten, ganz wie bei *Avena*. Entsprechendes geben auch WARMING (1872) für *Secale cereale*, RÖSLER (1928), BARNARD (1955) und ROTH (1957) für *Triticum* an. Wie BARNARD (1955) und ROTH (1957) berichten, treten diese Teilungen vor solchen im Dermatogen auf. Auch THIELKE (1951) fand, daß bei einer Reihe von Gramineen die Blattentwicklung mit einer periklinen Teilung in einer subepidermalen Zelle beginnt. Doch wie ROTH (1957) bemerkt, kann die Periklinalteilung der subepidermalen Schicht bei *Triticum* zuweilen etwas verzögert auftreten. In diesen auffälligen Teilungen in der Subepidermis sehen wir, dasselbe betont auch THIELKE (1951, S. 405), eine deutliche Relation zur Blattbildung, die sich dahingehend auswirkt, daß die erste

subepidermale Schicht in solchen Fällen an der Ausgestaltung der Blätter teilnimmt. Wir haben nun in der Abb. 18 ein Stadium dargestellt, welches diese Beteiligung der Subepidermis am Blattaufbau ganz klar zeigt. Am jungen Blatthöcker rechts oben dringen die subdermatogenen Spaltprodukte, ganz wie bei *Avena* und *Sorghum*, in den jungen Höcker

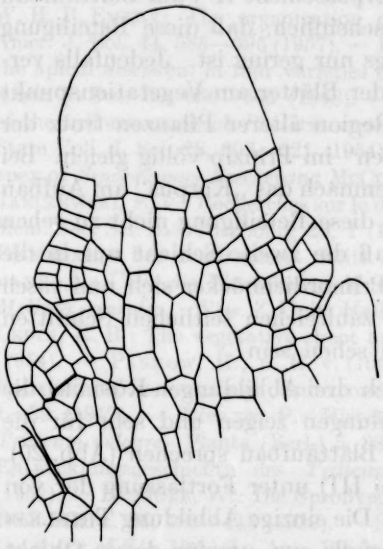


Abb. 18

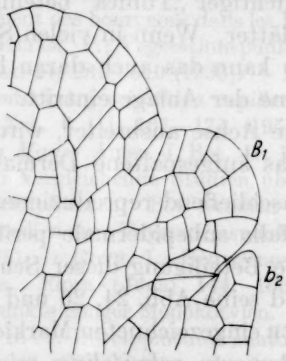


Abb. 19

Abb. 18. u. 19. *Triticum vulgare* HOST. Verschiedene Stadien der Blattentwicklung. B_1 Dorsalseite des ersten Blattes, b_2 Ventralseite des zweiten Blattes

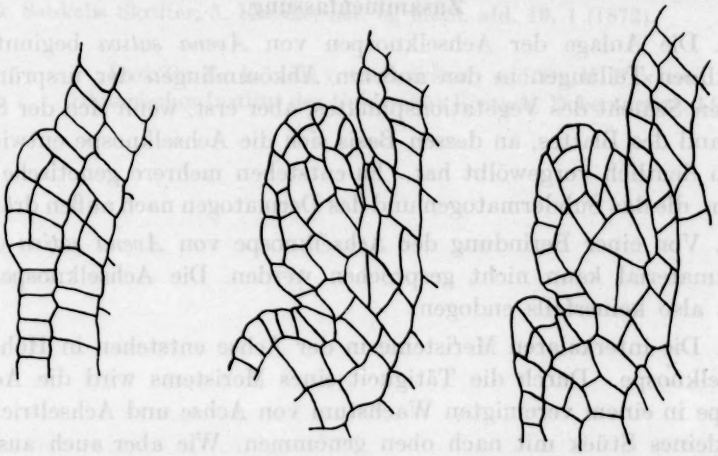


Abb. 20. *Triticum vulgare* HOST. Verschiedene Stadien der Blattentwicklung (nach RÖSLER)

vor. Bei dem Blatt unten links ist nun die Beteiligung des Subdermatogens am Blattaufbau noch weniger wegzuleugnen. Ihre Derivate reichen mit Sicherheit bis zu der stärker markierten Linie. In der Abb. 19 ist die Beteiligung des Subdermatogens besonders deutlich erkennbar.

Daraus müssen wir im Gegensatz zu RÖSLER (1928) und ROTH (1957) folgern, daß auch bei *Triticum vulgare* die erste subepidermale Schicht (hier an der Keimpflanze ist es die „Korpusschicht A") am Blattaufbau teilnehmen kann. Es ist jedoch wahrscheinlich, daß diese Beteiligung in sehr vielen Fällen wenigstens anfangs nur gering ist. Jedenfalls verläuft aber, wie wir sahen, die Bildung der Blätter am Vegetationspunkt der Keimpflanze und in der floralen Region älterer Pflanzen trotz der verschiedenen Zahl der „Tunicaschichten" im Prinzip völlig gleich. Bei einschichtiger „Tunica" beteiligt sich demnach das „Korpus" am Aufbau der Blätter. Wenn in vielen Schnitten diese Beteiligung nicht zu sehen ist, so kann das auch daran liegen, daß die zweite Schicht nur in die Mediane der Anlage eintritt. Da der Primordienhöcker sich nun rasch um die Achse ausbreitet, wird in den zahlreichen seitlichen Schnitten nur das aufgespaltene Dermatogen zu sehen sein.

Anschließend reproduzieren wir noch drei Abbildungen RÖSLERS, die gleichfalls subepidermale perikline Teilungen zeigen und sehr für die spätere Beteiligung dieser Schicht am Blattaufbau sprechen (Abb. 20). Es sind seine Abb. 24, 26 und 27 (Tafel III) unter Fortlassung der von RÖSLER eingezeichneten Markierungen. Die einzige Abbildung THIELKES von *Panicum palmifolium* reicht keinesfalls aus, um für dieses Objekt eine rein dermatogene Entstehung des Blattes zu beweisen.

Zusammenfassung

1. Die Anlage der Achselknospen von *Avena sativa* beginnt mit periklinen Teilungen in den äußeren Abkömmlingen der ursprünglich dritten Schicht des Vegetationspunktes, aber erst, wenn sich der Scheidenrand des Blattes, an dessen Basis sich die Achselknospe entwickelt, schon deutlich vorgewölbt hat. Es entstehen mehrere genetische Zellreihen, die das Subdermatogen und das Dermatogen nach außen drängen.

2. Von einer Berindung der Achselknospe von *Avena sativa* durch Blattmaterial kann nicht gesprochen werden. Die Achselknospe entsteht also keinesfalls endogen.

3. Die interkalaren Meristeme in der Achse entstehen in Höhe der Achselknospe. Durch die Tätigkeit eines Meristems wird die Achselknospe in einem vereinigten Wachstum von Achse und Achseltrieb um ein kleines Stück mit nach oben genommen. Wie aber auch aus dem Leitbündelverlauf ersichtlich ist, kann von einer echten kongenitalen Verwachsung nicht gesprochen werden.

4. Bei *Avena sativa* und *Sorghum vulgare* läßt sich die Beteiligung der subdermatogenen Schicht am Blattaufbau leicht nachweisen. Bei *Triticum vulgare* ist der Anteil des Subdermatogens bei der Blattanlage nur gering, aber ebenfalls deutlich nachweisbar.

Literatur

Barnard, C.: Histogenesis of the inflorescence and flower of *Triticum aestivum* L. Aust. J. Bot. **3**, No 1, 1—20 (1955). — Brown, W. V., Ch. Heimsch and W. H. P. Emery: The organization of the grass shoot apex and systematics. Amer. J. Bot. **44**, 585—595 (1957). — Hamilton, H. H.: A developmental study of the apical meristem in four varieties of *Avena sativa* grown at two temperatures. Amer. J. Bot. **35**, 656—665 (1948). — Holt, I. V.: Initiation and development of the inflorescences of *Phalaris arundinacea* L. and *Dactylis glomerata* L. Iowa State Coll. J. Sci. **28**, 603—621 (1954). — Hsü, J.: Structure and growth of the apex of *Sinocalamus Beecheyana* McClure. Amer. J. Bot. **31**, 404—411 (1944). — Janczewski, E. v.: Recherches sur le développement des bourgeons dans les Prêles. Mem. Soc. Sci. nat. Cherbourg **20**, 1 (1876). — Kliem, F.: Vegetationspunkt und Blattanalage bei *Avena sativa*. Beitr. Biol. Pflanz. **24**, 281—310 (1936). — Kullmann, A.: Über die Wurzelentwicklung und Bestockung von *Stipa capillata* und *Molinia caerulea*. Wiss. Z. Univ. Halle, Math.-Nat. **6** (1), 167—175 (1957). — Ledin, R. B.: The vegetative shoot apex of *Zea Mays*. Amer. J. Bot. **41**, 11—17 (1954). — Pankow, H., u. H. v. Guttenberg: Vergleichende Studien über die Entwicklung monokotyler Embryonen und Keimpflanzen. Bot. Studien H. **7**, 1—39 (1957). — Rösler, P.: Histologische Studien am Vegetationspunkt von *Triticum vulgare*. Planta (Berl.) **5**, 28—69 (1928). — Roth, I.: Histogenese und Entwicklungsgeschichte des *Triticum*-Embryos. Flora (Jena) **144**, 163—212 (1957). — Rüdiger, W.: Die Sproßvegetationspunkte einiger Monokotylen. Beitr. Biol. Pflanz. **26**, 401—443 (1939). — Sharman, B. C.: Developmental anatomy of the shoot of *Zea Mays* L. Ann. Botany, N. s. **6**, 245—282 (1942). — Leaf and bud initiation in the Gramineae. Bot. Gaz. **106**, 269—289 (1945). — Thielke, Ch.: Über die Möglichkeiten der Periklinalchimärenbildung bei Gräsern. Planta (Berl.) **39**, 402—430 (1951). — Warming, E.: Forgrenningsforhold hos Fanerogamerne. Vidensk. Selskabs Skrifter, 5. Raekke, nat. og math. afd. **10**, 1 (1872).

Prof. Dr. Dr. h. c. H. v. Guttenberg und Dr. H. Pankow,
Botanisches Institut der Universität Rostock, Doberanerstr. 143

Planta, Bd. 52, S. 644—708 (1959)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Bonn

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DARSTELLUNG UND BAU DER EKTODESMEN UND IHRE BEEINFLUSSBARKEIT DURCH STOFFLICHE FAKTOREN*

Von

EBERHARD SCHNEPF

Mit 21 Textabbildungen

(Eingegangen am 3. Dezember 1958)

A. Problemstellung

Die Entdeckung von SCHUMACHER u. HALBSGUTH (1939), daß in den Epidermisaußenwänden vieler Pflanzen durch eine Fixierung mit einem Sublimatgemisch zahlreiche plasmodesmenähnliche Strukturen (Ektodesmen) dargestellt werden, ist nicht ohne weitreichende Folgen für die Vorstellungen über die Wechselbeziehungen zwischen Pflanze und Umwelt geblieben. Man begegnete diesen Befunden auch nach einer weiteren Veröffentlichung von SCHUMACHER (1942) zunächst besonders von seiten der Plasmodesmenforscher mit einiger Skepsis. Galt doch merkwürdigerweise gerade das Fehlen von Plasmodesmen in den Epidermisaußenwänden als einer der Hinweise auf ihre Plasmanatur. Andererseits mehrten sich in letzter Zeit zellphysiologische Beobachtungen (u. a. SCHÄFER 1956, 1958) und Befunde aus der Wachstumsphysiologie (u. a. BÖHMER 1958), die auf eine Durchsetzung auch der Epidermisaußenwände mit Plasma deuteten.

Es ist das Verdienst von LAMBERTZ (1954), erkannt zu haben, daß die „Launenhaftigkeit" der Ektodesmendarstellung mit der Sublimatmethode zum Teil eine Folge von Lebensäußerungen der Pflanze ist. Er fand, daß der Tag-Nacht-Rhythmus, die Wetterlage, das Vergilben der Blätter und andere äußere und innere Faktoren die Nachweisbarkeit der Strukturen beeinflussen. 1956 beschrieben SCHUMACHER u. LAMBERTZ Veränderungen der Ektodesmen auch nach Auftragen von Aminosäuren und anderen Stoffen auf Blattoberflächen. Über den letzten Stand der Untersuchungen berichtete SCHUMACHER 1957.

Einige der zahlreichen von SCHUMACHER u. LAMBERTZ aufgezeigten Probleme werden in meinen folgenden Untersuchungen aufgegriffen. Unbefriedigend war vor allem, daß die bisherigen Ergebnisse nur mit einer einzigen Methode, der Sublimatfixierung, gewonnen wurden, zumal „Sublimatniederschläge auch schon Veranlassung zu mancherlei Irr-

* Dissertation der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Bonn (D 5).

lehren gegeben haben" (ROMEIS 1948, S. 73). Manche der tatsächlich auftretenden Fällungen haben SCHUMACHER (1942) wie auch mich ja immer wieder vor die Frage gestellt, ob nicht alle diese so dargestellten Strukturen nur Artefakte sind. Es fehlte daher nicht an Versuchen, andere Nachweismethoden zu finden; doch waren sie leider meist erfolglos (s. bes. LAMBERTZ 1954, Dissertation; über eine Jod-Schwefelsäuremethode berichten SCOTT u. Mitarb. 1948, 1951 und 1958).

Ich bemühte mich deshalb, 1. den Darstellungsvorgang bei der Sublimatmethode weiter zu untersuchen, 2. andere Nachweisverfahren zu finden und 3. den Feinbau der dargestellten Strukturen näher zu erforschen. Um aufzuklären, ob und wieweit die dargestellten Gebilde tatsächlich plasmatischen Strukturen entsprechen, untersuchte ich, ähnlich wie LAMBERTZ, vor allem die Veränderlichkeit der Ektodesmen unter den verschiedensten Bedingungen. Zwei Ziele standen dabei im Vordergrund: Es sollte geklärt werden, ob und wie bestimmte Umweltfaktoren auf die Ektodesmen wirken. Das Ausbleiben der Darstellung bzw. die Art der Veränderungen sollten weitere Hinweise über ihre Natur geben. Ferner sollte untersucht werden, wie fest die Ektodesmen in der Außenwand verankert sind; ob sie, wie LAMBERTZ (1954) sowie SCHUMACHER u. LAMBERTZ (1956) zunächst annahmen, pseudopodenartig eingezogen und ausgestreckt werden können, oder ob sie, wie es von denselben Autoren ebenfalls bereits in Erwägung gezogen wurde, fest in der Wand bleiben und nur ihre Darstellungsfähigkeit wechselt. Zum zweiten sollten die Versuche Aussagen über die Funktion der Ektodesmen im Leben der Pflanze ermöglichen: ob durch sie z. B. die cuticuläre Transpiration und die Aufnahme von Wasser, Nähr-, Reiz-, Wuchsstoffen und Insecticiden beeinflußt wird, bzw. ob sie daran irgendwie beteiligt sind und anderes mehr.

Die Untersuchungen wurden in den Jahren 1956—1958 im Botanischen Institut der Universität Bonn durchgeführt. Für die Anregung zu dieser Arbeit, für alle Unterstützung und für seine stete Hilfsbereitschaft danke ich meinem verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. W. SCHUMACHER, sehr herzlich. Die Deutsche Forschungsgemeinschaft ermöglichte durch finanzielle und materielle Unterstützung die Durchführung der Arbeit. Ich danke auch ihr.

B.

I. Untersuchungen über Darstellungsmethoden und Bau der Ektodesmen

1. Über die Darstellung mit sublimathaltigen Fixiergemischen

a) Methode und Material. Bei den meisten Untersuchungen verwendete ich die von SCHUMACHER (1942) angegebene und von LAMBERTZ (1954) verbesserte Methode:

Die Objekte, die nicht durch eine Vorfixierung oder eine andere Vorbehandlung abgetötet sein dürfen (in der Regel Blattstücke oder ganze Blätter), werden

8—16 Std in einer Lösung nach GILSON fixiert (40 ml Alkohol 30%, 10 ml gereinigter Holzessig, 5 ml Formalin 40%, 2 g Oxalsäure, Sublimat bis zur Sättigung). Wichtigster Bestandteil dieser Lösung ist das Hg(II) des Sublimats, das wahrscheinlich an den Ektodesmen zu Hg(I) reduziert wird (LAMBERTZ 1954). Ich werde noch zeigen (S. 652), daß die Fixierungstemperatur den Darstellungsvorgang beeinflussen kann. Daher wurden die Gläschen mit der Gilsonlösung nach dem Einbringen der Objekte in einen Thermostaten (+ 38° C) gestellt.

Wie schon SCHUMACHER (1942) angab, sind die Ektodesmen bereits unmittelbar nach Abschluß der Fixierung auch ohne Färbung als grobe, etwas undeutliche Gebilde in der Wand zu erkennen. Die weitere Behandlung der Objekte nach der Fixierung dient nur noch dazu, die Strukturen zu verfeinern und deutlicher zu machen: Die Blattstücke werden gründlich in 30%igem Alkohol gespült, um den Überschuß von Sublimat zu entfernen, auf dem Gefriermikrotom in 5%igem Alkohol als Einbettungsmittel geschnitten (Schnittdicke meist etwa 40 μ), dann sofort in eine Lösung von 1 Teil JK und 5 Teilen Aqua dest. gebracht, in der sie 5—10 min bleiben, und anschließend in einer Lösung von 3 g Pyoktanin, 450 ml Aqua dest. und 51 ml H_2SO_4 96% gefärbt (20—30 sec). Nach Auswaschen in Leitungswasser werden die Schnitte in Glycerin eingeschlossen.

Die Strukturen heben sich dann deutlich violett, bei nicht hinreichender JK-Behandlung auch bräunlich, von der weißen bis hellvioletten Außenwand ab, während das Cytoplasma meist etwas heller violett als die Ektodesmen gefärbt ist. Letztere beginnen schon nach wenigen Tagen zu zerfallen und verblassen langsam. Daher beträgt die Haltbarkeit dieser Glycerinpräparate nur einige Wochen.

Für die Anfertigung der mikroskopischen Aufnahmen stand ein Zeiss-Winkel-Standard-Mikroskop mit Leicaaufsatz (Faktor 0,4) zur Verfügung. Fotomaterial: Agepe Dokumentenfilm. Optische Ausrüstung: Wasserimmersion 90 × oder Neofluar Ölimmersion 100 ×. Fotookular 9 ×.

Für ein eingehendes Studium der Ektodesmen ist die Wahl günstiger Objekte wichtig. LAMBERTZ (1954) konnte sie zwar in den Laubblättern der meisten von ihm untersuchten Pflanzen finden, wenn diese nicht zu starke Cuticeln oder cutinisierte Außenwände hatten. Es stellte sich jedoch heraus, daß man nur mit relativ wenig Objekten experimentell intensiv arbeiten kann. Bei diesen müssen auch in ungünstigen Witterungsperioden Ektodesmen in genügender Zahl nachzuweisen sein. Besonders bewährt haben sich immer wieder Laubblätter von Primeln, allen voran *Primula veris ssp. macrocalyx*, aber auch *Primula acaulis*, *P. denticulata*, *P. veris*, *P. tommesinii*, *P. pulverulenta* und *Cortusa matthioli*. Für manche Untersuchungen eigneten sich auch *Passiflora coerulea*, *Primula auricula*, *P. pubescens*, *Cyclamen neapolitanum*, *Ajuga reptans* u. a. m. Freilandpflanzen sind hierbei Gewächshauspflanzen vorzuziehen.

b) Die verschiedenen Erscheinungsformen der Ektodesmen. Günstige Objekte vorausgesetzt, werden die Ektodesmen mit der Gilsonmethode als feine, fadenförmige Strukturen dargestellt, die quer durch die Außenwand der Epidermiszellen vom Lumen bis zur Cuticula laufen. Sie stehen häufig durch ein recht kräftig gefärbtes „Endknötchen" mit dem cytoplasmatischen Wandbelag in Verbindung. Unter der Cuticula sind sie meist etwas verdickt. Mitunter läßt sich zum Zellumen hin eine Auffaserung der Struktur beobachten. Oft treten die Fäden paarweise auf und laufen parallel eng nebeneinander, und häufig ordnen sich zwei oder mehr Ektodesmen zu einer Parabel oder einem Parabelbüschel. Sie

enden dann dicht nebeneinander unter der Cuticula oder verschmelzen dort miteinander, wie man in Aufsichtsbildern deutlich sehen kann (s. LAMBERTZ 1954, Abb. 14).

Nur an Aufsichtspräparaten kann man zu Zahlen über die Dichte der Ektodesmen kommen. Exakte Angaben lassen sich nur schwer machen, weil durch das paarweise dichte Nebeneinander und durch den parabelförmigen Verlauf der Strukturen die Individualität der einzelnen Fäden nicht immer sicher erkannt werden kann. Irrtümlicherweise (Rechenfehler) gab LAMBERTZ (1954) zu hohe Werte über die Dichte der Ektodesmen an. Unter optimalen Bedingungen konnte ich bei verschiedenen Primeln bis zu etwa 30 Ektodesmen auf 100 μ^2 finden. Diese Zahl entspricht größenordnungsmäßig den Angaben von KUHLA (1900) über die Dichte der Plasmodesmen in Cambiformzellen von *Viscum album*. Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Wurzelmeristemen brachten zwar neuerdings bedeutend größere Werte (STRUGGER 1957a), doch nimmt im Verlauf der Zellstreckung die Dichte stark ab (WARDROP 1955). Eine ausgewachsene Epidermiszelle aus einem Intercostalfeld hat bei *Primula veris ssp. macrocalyx* eine Außenfläche von durchschnittlich $70 \times 40\,\mu$ = etwa $3000\,\mu^2$, und somit können in der Außenwand einer solchen Zelle maximal etwa 900 Ektodesmen dargestellt werden. Meist findet man aber sehr viel niedrigere Zahlen.

LAMBERTZ (1954) fand, daß die Zahl der mit der Sublimatmethode nachgewiesenen Ektodesmen von der Zusammensetzung der Gilsonlösung abhängig ist. Er machte aber auch die überraschende Feststellung, daß sie auch bei gleichbleibenden Fixierungsbedingungen schwanken kann. Er konnte zeigen, daß das teilweise eine Folge von Umwelteinflüssen auf das Objekt vor der Fixierung ist. Wie ich noch in den folgenden Abschnitten genauer darlegen werde, wirken aber äußere und innere Faktoren nicht nur auf die Quantität, sondern auch auf die Qualität der dargestellten Strukturen. Ja, Formänderungen sind meist empfindlichere Indikatoren bei der Untersuchung von Umweltwirkungen als Veränderungen der Zahl, zumal diese, wie ich zeigen werde, oft auf Formänderungen zurückzuführen sind.

Ich möchte deshalb zunächst einen Überblick über die Formenmannigfaltigkeit geben, in der die Strukturen in den Epidermisaußenwänden mit dem Gilsonverfahren auch unter normalen Bedingungen bei den verschiedenen Objekten dargestellt werden.

Schon SCHUMACHER u. HALBSGUTH (1939) beobachteten, daß die Strukturen oft von der Cuticula aus lediglich bis zur Mitte der Zellwand zu reichen scheinen. Sie und LAMBERTZ (1954) führten das teils darauf zurück, daß Tüpfel in den inneren Teilen der Außenwand verquellen können und unsichtbar werden, wenn der cytoplasmatische

Wandbelag von den Ektodesmen abreißt (LAMBERTZ 1954, Abb. 15A). teils auf die unterschiedlich starken Quellungen von Ektodesmen und Außenwand während der Fixierung und Färbung (LAMBERTZ 1954, Abb. 15D). Im Verlauf meiner Untersuchungen wurde jedoch klar, daß diese Erklärungen allein nicht ausreichen, um das Auftreten von solchen Formen zu erklären. Es zeigte sich, daß die Länge ähnlich wie die Dichte vom Objekt und von Außenfaktoren mit beeinflußt wird, ohne daß sich dabei die Stärke der Wandquellung sichtbar verändert. Auffällig dabei ist, daß die äußeren Teile der Ektodesmen direkt unter der Cuticula relativ am längsten nachgewiesen werden können (Abb. 1b, c, f, g).

Grobe Ektodesmen können eine Folge von nur wenig quellenden Zusätzen zur Fixierungslösung sein (LAMBERTZ 1954). Sie treten aber auch dann bei vielen Objekten auf, wenn die Gilsonlösung Oxalsäure enthält. Unter günstigen Umständen und bei guten Objekten werden die Ektodesmen jedoch als feine Fäden dargestellt (Abb. 1a). Bei anderen Pflanzen sind die dargestellten Strukturen auch nach Zusatz von Oxalsäure zum Fixiergemisch meist grob fadenförmig (Abb. 1e) oder keilförmig (Abb. 1f, g). Diese groben, keilförmigen Gebilde findet man sogar meistens, wenn man nicht die erprobten Standardobjekte untersucht.

Bei der Darstellung der abgebildeten Formen war die Zusammensetzung der Gilsonlösung und die Dauer der Fixierung dieselbe. Die unterschiedlichen Formen wurden daher nur von der Art des Objektes und von den natürlichen Umwelteinflüssen auf die Pflanze vor der Fixierung bestimmt. Es ist also nicht schwer, Bilder von Ektodesmen zu erhalten, doch bekommt man wirklich „gute" Bilder nur von wenigen Objekten und hier nur unter optimalen Bedingungen. Welche dies sind, wird später noch zu erörtern sein. Die an verschiedenen Objekten gezeigten Typen von Ektodesmen lassen sich aber durch künstliche Beeinflussung auch an ein und demselben Blatt darstellen (vgl. Abschnitt 2).

Manchmal treten die Ektodesmen vorwiegend einzeln auf, ein anderes Mal findet man vorwiegend Parabelformen, mitunter ganze Büschel von Ektodesmen: Von einer Stelle unter der Cuticula gehen dann nach verschiedenen Seiten zum Lumen hin drei oder mehr meist leicht gebogene Fäden. Von ihnen erreicht oft nur einer das Lumen. In der Aufsicht sehen solche Büschel sternförmig aus (Abb. 13a, S. 677).

Die Intensität der Färbung kann ebenfalls — bei gleichbleibender Darstellungstechnik — schwanken, besonders bei sehr feinen Strukturen. Diese sind unter gewissen Umständen in ihrer ganzen Länge oder nur in ihren dem Lumen nahen Teilen so schwach gefärbt, daß sie sich der Sichtbarkeit entziehen. Man kann dann mitunter nur noch durch das

oft kräftiger dargestellte „Endknötchen" feststellen, daß sie die Wand tatsächlich völlig durchsetzen. Wenn die Ektodesmen grob sind, sind sie hingegen meist gleichmäßig kräftig gefärbt.

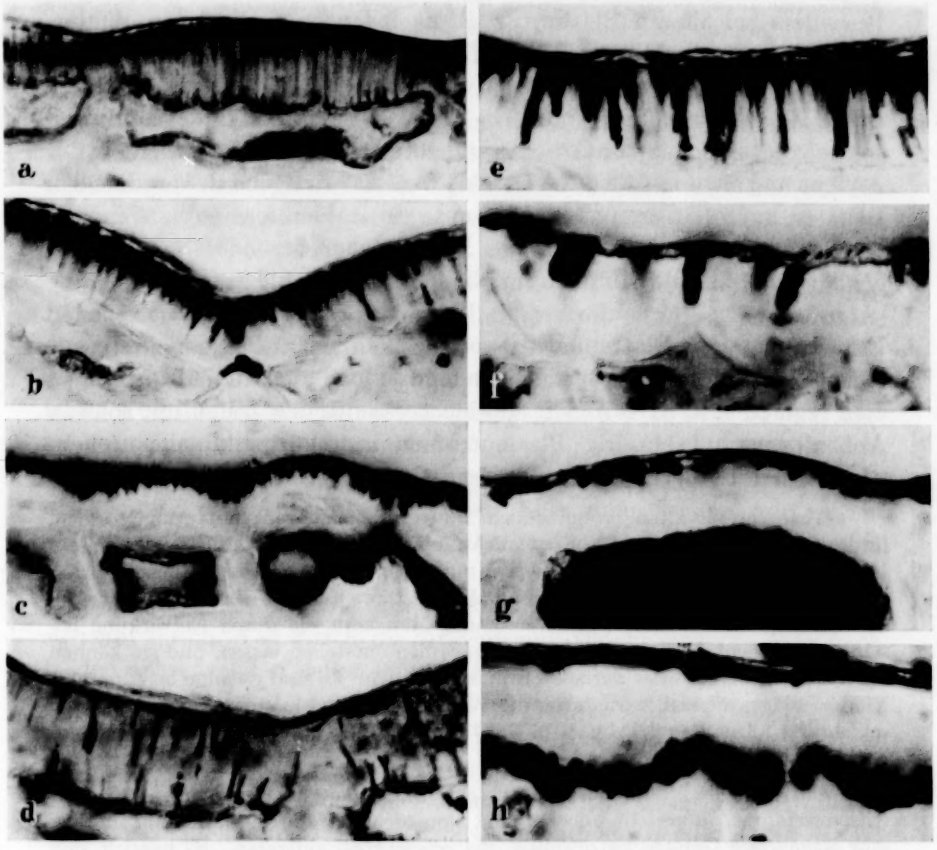


Abb. 1. Verschiedene Formen der Ektodesmen nach gleicher Fixierung (Gilsonlösung + Oxalsäure). Die einzelnen Objekte wurden unter den natürlichen Umweltbedingungen fixiert. Querschnitte durch Epidermiszellen der Blattoberseite, etwa 900×. *a Primula veris ssp. macrocalyx*, dichte, feine, durchgehende Ektodesmen; *b Cortusa matthioli*, Ektodesmen durchsetzen die Wand vorwiegend nur halb, in Antikline Plasmodesmen; *c Primula acaulis*, Ektodesmen dicht, fein, sehr kurz; *d Cyclamen neapolitanum*, „Abbauformen" von Ektodesmen, leichter „Abbau", feine Ektodesmen; *e Cyclamen ibericum*, grobe, durchgehende Ektodesmen; *f Gentiana przewalskii*, Ektodesmen halblang, sehr grob; *g Primula pubescens*, Ektodesmen sehr kurz, grob; *h Cyclamen neapolitanum*, „Abbauformen" von Ektodesmen, extrem starker Abbau, grob

Außer den Strukturen, die sich von der Cuticula in die Wand erstrecken, treten, wenn auch seltener, solche auf, die die umgekehrte Form zeigen: Sie gehen vom Lumen aus in die Außenwand, erreichen aber nicht die Cuticula. Schumacher (1942, Abb. 8—11) fand solche Gebilde bei *Testudinaria sp.*, Lambertz (1954, Abb. 21) bei vergilbenden

Blättern. LAMBERTZ (1954) und SCHUMACHER u. LAMBERTZ (1956) dachten daran, daß es sich hierbei um Ektodesmen handelt, die im Begriff sind, sich aus der Außenwand zurückzuziehen oder in sie hineinzuwachsen. Ähnliche Bilder kann man unter gewissen Bedingungen, besonders bei älteren Blättern, z. B. nach längeren abnormen Wetterperioden sowie im Winter, häufig finden. Meist kommen jedoch neben solchen Formen auch Strukturen vor, die von der Cuticula aus ein Stück in die Wand gehen (vgl. Abb. 15b, S. 681). Manchmal findet man auch solche, die, ohne bis zur Cuticula und zum Lumen zu reichen, frei in der Außenwand sitzen. Alle diese Gebilde treten vorwiegend in vergilbenden Blättern auf. LAMBERTZ (1954) nannte sie „Abbauformen". Wenn sie das Lumen erreichen, ist dort das Endknötchen besonders kräftig ausgebildet (Abb. 1d). In Extremfällen ist dieses allein noch sichtbar (Abb. 1h). Die „Abbauformen" haben in der Regel die für die normalen Ektodesmen des Blattstückes typische Feinheit. Bei Objekten mit dicken, keilförmigen Niederschlägen sind jedoch auch die Abbauformen dick (vgl. Abb. 3, S. 655). Oft werden gerade in den Zellen mit solchen Abbauformen gleichzeitig Plasmodesmen in den periklinalen Innenwänden der Epidermiszellen dargestellt.

Vorwiegend in alten, vergilbenden Blättern, gemeinsam mit Abbauformen, findet man unter Umständen aber auch Gebilde, die nur noch schwer in unsere Vorstellungen über normale Ektodesmen eingeordnet werden können. Sie reagieren genau wie diese auf das Nachweisverfahren. Diese Gebilde sind wahrscheinlich den normalen Strukturen wesensverwandt. Man kann sie durch Einwirkung bestimmter Außenfaktoren aus den Normalformen entstehen lassen, und sie können unter Umständen in diese zurückverwandelt werden. Es sind flächige bis klumpige Niederschläge, die sich wirr durch die Wand erstrecken, manchmal der Celluloseschichtung folgend (vgl. Abb. 13b, S. 677). Eine Erklärung für ihre Natur kann noch nicht gegeben werden.

Wenn man die Mannigfaltigkeit beschreibt, in der die Ektodesmen mit dem Gilsonverfahren dargestellt werden, darf man nicht unterlassen, auch auf andere, sehr eigenartige Gebilde hinzuweisen, die gelegentlich auftreten. Es handelt sich teils um fädige, teils um bäumchenförmig verzweigte, teils um flächige Quecksilberniederschläge (s. auch SCHUMACHER 1942, Abb. 12). Sie können sich in allen möglichen Stellungen in der Außenwand befinden, besonders häufig über den Antiklinen. Ob sie überhaupt etwas mit den normalen Ektodesmen zu tun haben, ist ungewiß. Sie zwingen den Untersucher jedoch immer wieder, sich die Frage vorzulegen, ob und wieweit die mit der Gilsonmethode erzeugten Fällungen überhaupt und generell reale plasmatische Strukturen wiedergeben. Im allgemeinen sind sie leicht als „abnorm" zu erkennen.

Zu eigenartigen Bildungen kommt es mitunter auch im Zellumen, vor allem bei zum natürlichen „Abbau" neigenden Ektodesmen. Die Niederschläge setzen sich dann über die Endknötchen hinaus fort. Sie laufen zum Teil bis an oder sogar durch die gegenüberliegende periklinale Innenwand der Epidermiszelle hindurch. Oder es strahlen von den Endknötchen aus kristallnadelartige Gebilde in und durch das Lumen. Daß sie direkt nichts mit den allgemein als Ektodesmen bezeichneten Strukturen zu tun haben, kann bei sorgfältiger Beobachtung kaum

zweifelhaft sein. Der Untersucher muß sie jedoch kennen, um sich auch durch ihr gelegentliches Auftreten nicht täuschen zu lassen.

Zur Erleichterung der Diskussion über die Ektodesmen will ich im folgenden vorerst die Strukturen (gleich welcher Form), die nach dem Gilsonverfahren oder nach anderen Darstellungsverfahren normal in der Außenwand entstehen, einfach als „Ektodesmen" bezeichnen, obwohl dies, wie ich später zeigen werde, nicht ganz korrekt ist.

c) Weitere Beobachtungen über das Vorkommen der Ektodesmen. Den bisherigen Beobachtungen über das allgemeine Vorkommen der Ektodesmen seien noch einige neue hinzugefügt: Im Blattrand bei verschiedenen Arten von *Primula*, *Cyclamen*, *Passiflora* usw. sind bei besonders starker Quellung der Außenwände oft auch schon in noch nicht vergilbenden Blättern Abbauformen zu beobachten. Vielleicht darum, weil der Blattrand der physiologisch älteste Teil des Blattes ist. Die Ektodesmen der Blattrandzellen und ihre Abbauformen zeichnen sich durch besondere Feinheit aus, auch wenn sie in der übrigen Epidermis relativ grob sind. Bei den normalen Epidermiszellen der Intercostalfelder sind die Ektodesmen oft bevorzugt genau über dem Lumen, und sie vermeiden eine Stellung nahe den Antiklinen. Aber auch das Umgekehrte kann der Fall sein. Dann sind besonders viele Ektodesmen direkt über den Antiklinen, während über dem Lumen nur relativ wenige auftreten. So ist es z. B. sehr häufig bei Epidermiszellen von Blattnerven. In solchen Fällen beginnen die Ektodesmen meist recht kräftig unter der Cuticula direkt über der Antikline und verzweigen sich auf ihrem Weg durch die Außenwand, indem einzelne Äste nach beiden angrenzenden Zellen laufen. Die Teilstücke, die erst ganz in der Nähe der Lumina abzweigen, ähneln normalen Plasmodesmen zwischen den beiden Epidermiszellen. Oftmals sind auch diese nur allein zu finden, so daß dann völlig der Eindruck von Plasmodesmen entsteht (Abb. 1 b, S. 649). In diesen Teilen der Außenwand dicht über einer Antikline lassen sich auch mit der Jod-Pyoktaninmethode nach Meyer (1897) in der Variation von Johansen (1940, S. 108) oftmals Plasmodesmen nachweisen. Verzweigte Ektodesmen findet man aber auch recht häufig über dem Lumen (Schumacher 1942, Abb. 6 und 12). Die Verzweigung öffnet sich immer unter spitzem Winkel in der Diffusionsrichtung der Fixierlösung.

Bei Blättern mit stark gefältelter Cuticula steht die Anordnung der Ektodesmen oft in Zusammenhang mit den Falten, sie sitzen dabei meist unter den „Tälern". Mitunter zieht ferner, wie man in Aufsichtspräparaten sehen kann, eine Reihe von Ektodesmen, in der sie ganz dicht hintereinander angeordnet sind, ohne Rücksicht auf Zellgrenzen und Cuticularfältelung quer über das Blatt, das sonst nur relativ wenig Ektodesmen hat. Das Auftreten von mehreren, parallelen Reihen ist in solchen Fällen nicht selten.

Im Gegensatz zu SCHUMACHER (1942, S. 533) und LAMBERTZ (1954, S. 162) fand ich, daß die Nachweisbarkeit der Ektodesmen zumindest bei den am meisten untersuchten Primeln und Passifloren doch vom Blattalter abhängig ist. Mit der Gilsonmethode werden in sehr jungen, wachsenden Blättern meist nur relativ wenige, kurze und grobe Ektodesmen dargestellt. Erst bei voll ausgewachsenen Blättern erscheint ihre Zahl und Form optimal. Alte Blätter haben wiederum häufig „Abbauformen". Ich konnte allerdings häufig auch noch bei deutlich, doch nicht zu stark vergilbten Blättern optimale Ektodesmen finden. Andererseits treten bei ungünstigen Außenbedingungen, vor allem im Winter, Abbauformen auch bei durchaus voll grünen und recht jungen Blättern auf. Vergilbung und Abbau können also, brauchen aber nicht gemeinsam auftreten (entgegen LAMBERTZ 1954).

Der umfangreichen Liste von LAMBERTZ (1954) über die Verbreitung der Ektodesmen bei den Angiospermen seien noch einige interessante Ergänzungen zugefügt: Es gelang niemals, Ektodesmen bei Gräsern nachzuweisen, vermutlich, weil dort die Außenwand wegen der Einlagerung von Kieselsäure nicht gequollen werden kann. In diesem Zusammenhang sei aber auch auf das bekannte regelmäßige Vorkommen von lichtmikroskopisch sichtbaren Tüpfeln in den Außenwänden von Gräsern hingewiesen, die vielleicht stellvertretend auftreten. Dagegen konnte ich bei einigen Wasserpflanzen Ektodesmen finden: *Elodea densa* (Sproßachse), *Elisma natans* (Blatt), *Hippuris vulgaris* (submerse Sproßachse); ferner in nicht freiliegenden Epidermen, so bei Zwiebelschuppen (*Allium cepa*, äußere Epidermis) und in Scheinstämmen (*Musa paradisiaca v. seminifera*, Blattscheidenepidermis). Auch bei einem Farn (*Platycerium bifurcatum*) gelang mir der Nachweis in Schließzellen. Die meisten Farne und Moose haben jedoch nichtquellbare oder sehr dünne Außenwände, was vermutlich eine Darstellung unmöglich macht bzw. eine sichere Identifizierung von vorhandenen Niederschlägen erschwert.

d) Die Fixierungstemperatur. Um sichere Aussagen über die Natur der Ektodesmen machen zu können, ist es nötig, den Vorgang ihrer Darstellung zu kennen. LAMBERTZ (1954, Diss.) und SCHUMACHER u. LAMBERTZ (1956) vermuten, daß die freien Hg(II)-Ionen der Gilsonlösung an den Ektodesmen zu Hg(I) reduziert werden. Da die Intensität eines solchen Vorganges temperaturabhängig ist, muß auch die Darstellung durch die Fixierungstemperatur beeinflußt werden.

Eine Reihe von Versuchen (im Mai 1956) brachte folgende Ergebnisse: Bei $+3^0$ C Fixierungstemperatur waren in Blattstücken von *Primula acaulis* nur wenige, sehr schwach gefärbte und daher kaum sichtbare Ektodesmen dargestellt. Ihre Zahl wurde bei $+20^0$ C bedeutend größer, ebenso wie die Intensität der Färbung, doch erst bei $+38^0$ C waren sie nach Dichte und Färbung optimal. Ihre Dichte ist bei der Fixierung in der Kälte wahrscheinlich darum geringer, weil sie wegen der zu schwachen Sublimatreduktion nicht kräftig genug gefärbt sind, um sichtbar zu sein; ihre Form ändert sich nicht. Bei Fixierungstemperaturen über $+45^0$ C bilden sich verstärkt deutlich erkennbare Artefakte.

Bei *Passiflora coerulea* waren die Befunde ähnlich, nur waren dort die Ektodesmen an sich sehr viel kräftiger und gröber, so daß auch bei einer Fixierung bei $+3^0$ C schon fast das normale Bild erreicht war.

Eine gute Darstellung der Ektodesmen erfolgte auch dann, wenn die Blattstücke in eine Gilsonlösung von Zimmertemperatur gebracht und diese dann mit den Objekten in einen Thermostaten ($+38^0$ C) gestellt wurden. Daher fixierte ich meistens auf diese Weise. Vereinzelt vorgenommene Kontrollfixierungen bei Zimmertemperatur ergaben, daß mitunter überhaupt nur bei den wärmer behandelten Objekten Ektodesmen deutlich sichtbar dargestellt wurden. Die günstigste Fixierungstemperatur schwankt von Objekt zu Objekt und ist von der Reduktionskraft der Strukturen abhängig.

Die Mißbildungen bei Fixierungen mit hohen Temperaturen entstehen wahrscheinlich dadurch, daß die heiße Gilsonlösung sehr schnell durch die Spaltöffnungen in die Intercellularen dringt und die Epidermiszellen von innen her angreift (vgl. S. 654). Vielleicht wird auch das Cytoplasma durch die hohe Temperatur abgetötet, ehe der eigentliche Darstellungsvorgang abgeschlossen ist. Weiterhin wird das Sublimat in der Hitze auch an anderen Stellen, z. B. an der Cuticula, reduziert.

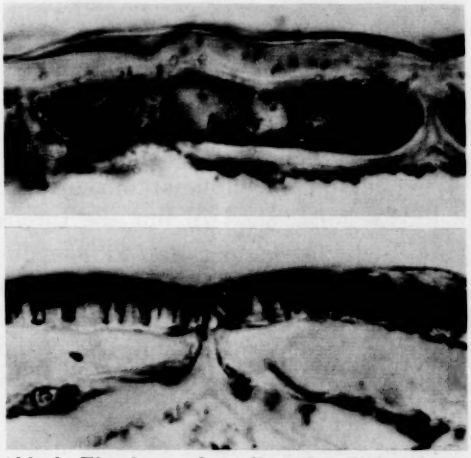


Abb. 2. Ektodesmendarstellung bei Fixierung gefrorener (oben) und ganz kurz aufgetauter (unten) Stücke eines frostharten Blattes, Querschnitte durch Epidermiszellen der Oberseite desselben Blattes, *Primula veris ssp. macrocalyx*, etwa 900 ×

Dagegen ist die schwache Färbung bei Fixierungen in der Kälte keine Folge von Einflüssen auf die Vitalität der Zellen, denn eine lange mäßige Kältevorbehandlung fördert ganz im Gegenteil die Ektodesmen (Schumacher 1957). Fixiert man (bei $+38^0$ C) allerdings Blätter nach raschem Tieffrieren, durch das sie irreversibel geschädigt wurden, so kann man keine Ektodesmen mehr nachweisen (Lambertz 1954). Eine genaue Analyse ergab allerdings, daß unter der Cuticula noch einige sehr kurze, mäßig dicke Ektodesmen nachweisbar bleiben.

Anders sind die Vorgänge, wenn ein frosthartes Blatt durch das Frieren nicht geschädigt wurde. Auch hier sind keine normalen Ektodesmen nachzuweisen, wenn das Blatt (nach langsamem, natürlichem Frieren z. B. im Winter) in gefrorenem Zustand fixiert wird. Es sind dann nur Zerfallsformen frei in der Außenwand und kurze Ektodesmenreste unter der Cuticula zu beobachten. Es genügt aber schon ein ganz kurzes Auftauen in der Wärme der Hand (weniger als 1 min), um wieder völlig normale, durchgehende Ektodesmen entstehen zu lassen (Abb. 2). Offenbar ist dabei entscheidend, daß eine irreversible Schädigung des Plasmas die Darstellungsmöglichkeit der Ektodesmen irreversibel zerstört, während Einwirkungen, die nicht zu so schweren Schäden

führen, lediglich vorübergehende Veränderungen in der Darstellungsmöglichkeit zur Folge haben.

e) Fixierdauer und Veränderungen des Fixiergemisches. LAMBERTZ (1954) stellte fest, daß bei vielen Objekten Ektodesmen schon nach 10 min Fixierungszeit dargestellt werden. Bei der Reproduktion dieser Versuche beobachtete ich, daß die Außenwand zunächst nur sehr wenig gequollen ist. Die Sublimatreduktion erfolgt also vor der Wandquellung. Die Unterschiede in Zahl und Form der Strukturen, die durch die verschiedenen Zusätze zur Gilsonlösung entstehen (LAMBERTZ 1954), sind also wahrscheinlich nicht allein eine Folge der durch diese Mittel geänderten Wandquellung, sondern diese greifen auch noch an anderer Stelle in das Darstellungsgeschehen ein. Sie sind jedoch für den Nachweis nicht unbedingt nötig. Es gelingt nämlich, Ektodesmen allein mit einer gesättigten Sublimatlösung ohne alle Zusätze sichtbar zu machen. Eine Verminderung der Sublimatkonzentration in der Gilsonlösung verändert nicht die Form, sondern nur die Intensität der Niederschlagsbildung.

f) Die Eindringung des Fixiergemisches. Eine wichtige Voraussetzung für den Ektodesmennachweis ist, daß das zu fixierende Blattstück eine gewisse Mindestgröße nicht unterschreitet (LAMBERTZ 1954). LAMBERTZ griff den Befund von SCHUMACHER (1942) auf, daß eine Ektodesmendarstellung bei Fixierung von Freihandschnitten unterbleibt. Er vermutete einen direkten Einfluß der Verletzung auf die lebende Struktur, während SCHUMACHER u. a. auch daran dachte, „daß das Fixierungsmittel langsam von der Außenfläche her durch die Wände dringen muß und nicht von der Seite her rasch in die verletzten Zellen gelangen darf". In einer Reihe von Versuchen prüfte ich, ob diese Effekte durch den Wundreiz oder die Eindringung verursacht werden.

Nach der Fixierung zeigen Blattstücke an den Wundrändern eine Zone (bei dicken Blättern bis zu 3 mm breit, bei dünnen Blättern sehr viel schmaler), die sich, schon mit dem bloßen Auge sichtbar, durch eine grauere Färbung vom übrigen Objekt abhebt. In ihr lassen sich keine normalen Ektodesmen darstellen. Bei *Primula pubescens*, ähnlich auch bei anderen Objekten, findet man in den Epidermiszellen direkt am Schnittrand nur einen sehr feinkörnig erscheinenden Wandbelag, jedoch keine Ektodesmen und Plasmodesmen. Dieser Wandbelag wird in den Zellen weiter zum Blattinneren hin grobkörnig. Besonders stark ist stets die Körnelung an den parallel zur Wunde verlaufenden Wänden ausgebildet, und zwar an ihrer der Wunde zugekehrten Seite. Auf diese Zone folgen Zellen, in denen sich an Stelle der Körnchen kurze Ektodesmen gebildet haben. Diese reichen jedoch vom Lumen aus nur ein kurzes Stückchen in die Außenwand. Ferner finden sich hier in den Zwischenwänden auch Plasmodesmen. Auch diese durchsetzen hier die Wände nicht vollständig. Sie beginnen auf der Wundseite, also von der Diffusionsrichtung her, und enden, bevor sie das Lumen der Nachbarzelle erreicht haben. In der nächsten Zone durchsetzen die Plasmodesmen die Zwischenwände völlig. Auch die Ektodesmen reichen weiter in die Außenwände hinein. Ektodesmen und Plasmodesmen werden nach innen zu immer gröber und weniger. Am Ende der makroskopisch sichtbaren grauen Randzone werden die von innen

her in die Außenwand reichenden Ektodesmen von ebenso groben Strukturen abgelöst, die die Wand von der Cuticula her mehr oder weniger zu durchsetzen scheinen. Diese Formen sind auch für das Innere des Blattstückes typisch. Dagegen werden hier keine Plasmodesmen in den Zwischenwänden mehr dargestellt. Die „Randformen" der Ektodesmen haben eine gewisse Ähnlichkeit mit den „Abbauformen" in vergilbenden Blättern (vgl. S. 649).

Der typische „Randeffekt" tritt auch bei der Fixierung abgezogener Epidermen auf. Mitunter bilden sich die gleichen Erscheinungen auch um eine Spaltöffnung herum, wo das Eindringen des Fixiergemisches dann wahrscheinlich von der Atemhöhle her erfolgte.

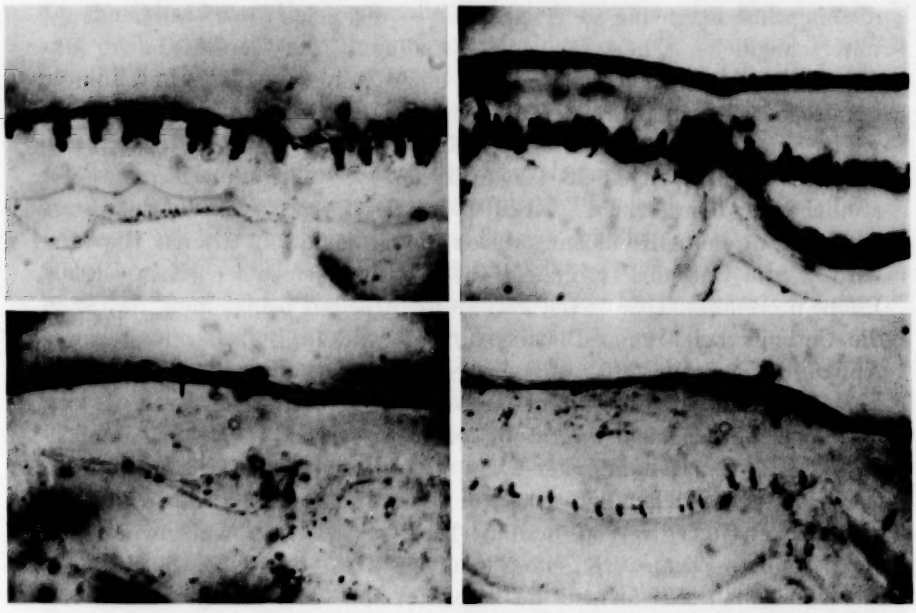


Abb. 3. Darstellung von Ektodesmen bei normaler Fixierung (oben) und Fixierung mit Infiltration (unten); links „kurze" Ektodesmen, rechts „Abbauformen". Querschnitte durch Epidermiszellen der Oberseite desselben Blattes; *Cyclamen neapolitanum*, etwa 600 ×

Nicht viel anders als eine Wunde wirkt eine Infiltration der Gilsonlösung. Gelingt es, unter der Wasserstrahlpumpe alle Luft aus den Intercellularen rasch zu entfernen, so daß das Fixierungsmittel schnell an die Zellen gelangt, werden keine Ektodesmen mehr dargestellt. Wenn allerdings, wie z. B. oft bei den dünnen Primelblättern, auch nach längerem Evakuieren noch etwas Luft in den Geweben verbleibt, erscheinen noch Reste von Ektodesmen, ähnlich denen aus Wundzonen, häufig auch, ebenso wie dort, Plasmodesmen, die sonst mit der Gilsonmethode nicht dargestellt werden. Infiltriert man Blätter mit „Abbauformen", so verschwinden die Ektodesmen, die von der Cuticula aus in die Wand gehen, fast völlig, während die Abbauformen, wenn auch sehr viel feiner, meist erhalten bleiben (Abb. 3).

Die „Randformen" regenerieren sich auch nach längerer „Erholungszeit" nicht wieder zu normalen Ektodesmen. Sie bilden sich nach Abdichten der Wunden mit Vaseline nicht aus. Daher beruht das Mißlingen des Ektodesmennachweises an Schnitträndern nicht auf einem „Wundreiz", sondern wahrscheinlich darauf, daß die Gilsonlösung durch die Wunde schneller eindringt als durch die Außenwand und nicht langsam von außen her, was offensichtlich für die Darstellung der Ektodesmen mit Sublimat erforderlich ist. Vielleicht zerstört das rasch in starker Konzentration eindringende Sublimat die plasmatischen Strukturen, während die langsame Fixierung sie erhält. Die — möglicherweise bestehende — unterschiedliche Eindringungsgeschwindigkeit der verschiedenen Bestandteile der Gilsonlösung, die zu einer Konkurrenzfixierung führen könnte, ist jedoch nicht die Ursache für den Randeffekt, da ähnliche Bilder auch bei Fixierungen mit reiner Sublimatlösung auftreten.

Vielleicht beruht auch das Auftreten der den Wundformen sehr ähnlichen „Abbauformen" vergilbender Blätter auf einer erleichterten Eindringung der Gilsonlösung durch die Cuticula. In älteren Blättern wird ja die Cuticula zumindest für Wasser permeabler (KAMP 1930, PISEK u. BERGER 1938). Ich konnte nicht selten beobachten, daß sich die Cuticula bei älteren Blättern und gerade an Stellen mit starkem Abbau bei der Durchführung der Sublimatmethode ablöst. Bei sehr kurzen Fixierungszeiten werden ferner die Abbauformen eher als die normalen Ektodesmen dargestellt (ebenso auch die in Epidermiszellen mit Abbauformen häufig zur Darstellung kommenden Plasmodesmen durch die periklinalen Wände). Nur die normalen Ektodesmen in Epidermiszellen über Nerven und an Haarbasen, deren Außenwände ja als besonders permeabel gelten (Lit. bei GESSNER 1956, S. 218), erscheinen genau so früh wie die Abbauformen. Ein Einziehen und ein „Abbau" der plasmatischen Substanz, wie es von LAMBERTZ (1954) vermutet wurde, braucht also nicht unbedingt an dem Entstehen der „Abbauformen" beteiligt zu sein.

g) Die Darstellung von Innenwand-Plasmodesmen mit dem Gilsonverfahren und der Vergleich mit den Ektodesmen. Wichtig für die Beurteilung der Sublimatmethode und die Deutung der mit ihr erhaltenen Befunde über die Ektodesmen sind Beobachtungen über die gleiche Darstellung von Plasmodesmen, deren Natur und Bau man ja viel länger als von den Ektodesmen kennt. Nur äußerst selten findet man bei normaler Anwendung der Gilsonmethode auch in Innenwänden Strukturen, die den seit langem bekannten Bildern von Plasmodesmen entsprechen. Manchmal ist dies der Fall in den Querwänden von Haaren, bei einigen Objekten (z. B. *Gentiana przewalskii*) mitunter auch in den antiklinalen Wänden der Epidermiszellen. Meist erscheinen bei dem Sublimatverfahren jedoch nur Ektodesmen, während Plasmodesmen in

den Binnenwänden nicht dargestellt werden. Ausnahmen erwähnte ich schon: Wundzonen eines Blattstückes und Zellen mit Abbauformen von Ektodesmen. Ich konnte hier wahrscheinlich machen, daß die Bildung der Strukturen von der Eindringungsart der Gilsonlösung abhängig ist.

Die Plasmodesmen der Quecksilbermethode sind, wenn sie überhaupt zur Darstellung kommen, bedeutend gröber als die der Jod-Pyoktaninmethode nach MEYER und scheinen die Wand meist nicht völlig zu durchsetzen, sondern befinden sich nur in der der Wunde zugekehrten Hälfte. Das „Mittelknötchen" fehlt. Die Strukturen in den Periklinen von Epidermiszellen mit Abbauformen der Ektodesmen sind grob, wenn diese grob sind. Sie durchsetzen wie diese die Wand oft nicht völlig, sondern nur ihre äußere Hälfte. Sie besitzen auch oft die für die Ektodesmen typische Parabelform (die bei anderen Nachweismethoden bei Plasmodesmen nicht erscheint) mit dem Scheitel zur Blattoberfläche und können wie die Ektodesmen mit spitzem Winkel zur Diffusionsrichtung verzweigt sein.

Auch im Nervenparenchym findet man häufig solche Strukturen, wie schon SCHUMACHER (1942) und LAMBERTZ (1954, Abb. 18—20) bemerkten, wohl eine Folge der gerade in diesen langgestreckten Zellen erleichterten Eindringung der Gilsonlösung.

Es bestehen also beträchtliche Unterschiede zwischen den Plasmodesmen nach dem Jod-Pyoktaninverfahren (dem gleichwertig auch das Jod-Schwefelsäureverfahren usw.) und den Plasmodesmen der Sublimatmethode, Unterschiede in der Form und der Zahl der Strukturen wie in der Sicherheit des Nachweises. Nach dem Jod-Pyoktaninverfahren lassen sich die Plasmodesmen, soweit wir zur Zeit wissen, stets unabhängig von äußeren und inneren Einflüssen darstellen (SCHUMACHER 1957, im Gegensatz zu LAUBERT 1897, STRASBURGER 1901, HENKEL 1950). Beim Sublimatverfahren treten dagegen Schwankungen wie beim Ektodesmennachweis auf. Meist werden die Plasmodesmen überhaupt nur dann dargestellt, wenn die Ektodesmen irgendwie geschädigt erscheinen (Abbauformen, Randformen), nicht aber, wenn diese durchgehend oder kurz sind.

Trotz aller Differenzen sind aber sicherlich die mit der Quecksilbermethode dargestellten Plasmodesmen genau wie die Ektodesmen keine reinen Artefakte, sondern Gebilde, die zwar eine reale plasmatische Struktur als Grundlage haben, die aber durch diese Methode oft vergröbert und wohl zum Teil auch nicht in allen Einzelheiten der plasmatischen Struktur entsprechend dargestellt werden.

2. Über die Darstellung der Ektodesmen mit einer Jod-Silbermethode

Die meisten bisherigen Arbeiten über Ektodesmen wurden mit der Sublimatmethode durchgeführt. Wohl fehlte es nicht an Bemühungen,

weitere Nachweisverfahren zu finden, doch hatten nur SCHUMACHER (1942, bei *Passiflora sp.*, Blattstiel, nach PFEIFFER-WELLHEIM) und SCHUMACHER u. LAMBERTZ (1956, bei *Cyclamen europaeum*, Laubblatt) mit einer Versilberungsmethode je einmal einen bislang nicht wieder zu reproduzierenden Erfolg. Auch von der Silberimprägnierung der Plasmodesmen z. B. nach PFEIFFER-WELLHEIM ist ja bekannt, daß sie nur sehr unsichere Ergebnisse liefert.

SCHUMACHER u. LAMBERTZ suchten zuletzt die natürliche Reduktionskraft der Ektodesmen direkt zur Reduktion von Silbernitrat zu verwenden und sie noch durch Aufbringen von Ascorbinsäure u. a. m. auf die Blattoberfläche zu verstärken. Ähnlich PFEIFFER-WELLHEIM versuchte ich dagegen, die Affinität der Ektodesmen zu Jod auszunutzen und dann eine Jod-Silberfällung zu erzeugen. Mit dieser Methode gelang es mir auch tatsächlich, in vielen Fällen Ektodesmen darzustellen.

a) Die Durchführung des Nachweisverfahrens. Die Blattstücke werden in einer 5%igen JK-Lösung, der Jodkristalle bis zur Sättigung zugefügt werden (etwa 4%) fixiert (8—16 Std), danach sehr kurz in Wasser gespült und in 1%igen $AgNO_3$ zur Bildung von AgJ gebracht. Beleuchten bzw. Erwärmen mit einer Glühbirne verbessert das Resultat. Nach einigen Stunden Aufenthalt in der $AgNO_3$-Lösung werden die Blattstücke gründlich gespült und in 5%igem Alkohol auf dem Gefriermikrotom geschnitten. Hierbei zerfallen die Objekte oft sehr stark. Die Schnitte werden entweder gleich in Glycerin oder Glyceringelatine eingeschlossen oder vorher kurz in einem Uhrglas bzw. auf dem Objektträger direkt, vorsichtig mit einer 1%igen KCN-Lösung behandelt, um störende Jod-Silberniederschläge zu entfernen. Die Dauer der Differenzierung richtet sich nach der Stärke der Niederschlagsbildung. Die Präparate sind bisher nahezu unverändert haltbar.

Positive, jedoch meist nicht so gute Ergebnisse kann man auch bei recht erheblichen Änderungen der Zeiten und Konzentrationen erzielen. Auch eine vorherige Fixierung mit einem anderen Fixierungsmittel (mit Ausnahme der Gilsonfixierung, s. S. 663) bringt gute Resultate, wenn vor dem Einbringen in $AgNO_3$ die Jodjodkaliumbehandlung erfolgte. Unbedingt erforderlich ist jedoch, daß die Blattstücke erst nach Abschluß der Silberdurchtränkung mit dem Mikrotom geschnitten werden. Fixiert man Schnitte oder schneidet man unmittelbar nach der Jodbehandlung und versucht dann nachträglich die Darstellung mit $AgNO_3$, so unterbleibt diese, möglicherweise weil das Jod in diesen Fällen sehr leicht ausgewaschen wird. Die Darstellung der Ektodesmen wird schon verhindert, wenn die Blattstücke nach der Jodierung in 30%igem Alkohol statt in Wasser gespült werden, offenbar, weil dieser das gebundene Jod leichter als Wasser wieder herauslöst.

b) Bau und Vorkommen der mit der Silbermethode dargestellten Ektodesmen. Bei günstigen Objekten färbt sich ein Teil der Außenwand unter der tief dunkelbraunen Cuticula diffus dunkel. Weiter nach innen wird sie jedoch von vielen, deutlich sichtbaren, dichten, braunen Ektodesmen durchsetzt. Sie scheinen in der dunklen Schicht unter der Cuticula zu entspringen, reichen meist bis zum Lumen und können dort über ein kleines Endknötchen mit dem protoplasmatischen Wandbelag in Verbindung stehen (Abb. 4). In manchen Fällen scheinen einzelne

Fädchen auch nur den äußeren Teil der Wand zu durchsetzen (Abb. 4, Mitte). Nur selten bildet sich die diffus dunkle Schicht unter der Cuticula nicht aus. Dann sind die Ektodesmen bis an die Cuticula sichtbar.

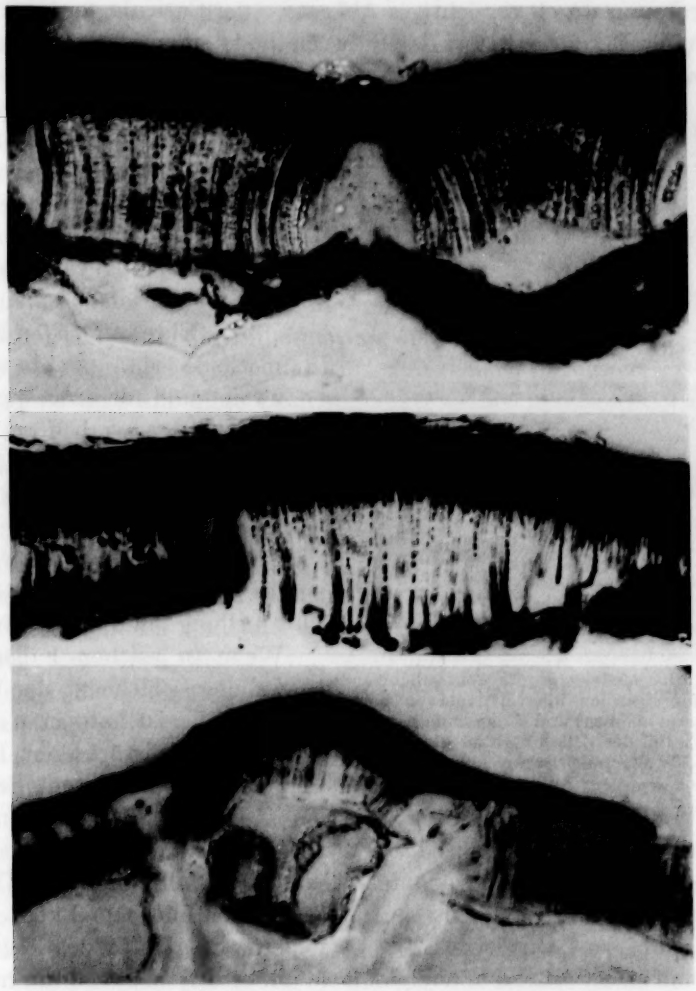


Abb. 4. Ektodesmen nach der Jod-Silbermethode. Querschnitte durch Epidermiszellen über Blattnerven bei *Cyclamen neapolitanum* (oben), *Cyclamen* × *atkinsii* (Mitte), *Asarum europaeum* (unten); etwa 900 ×

Häufig nimmt sie jedoch einen großen Teil der Außenwand ein, und die sichtbaren Fäden sind auf die freie Zone bis zum Lumen beschränkt. Sehr oft reicht sie fast bis zum Lumen. Nur in ihrem inneren Teil kann man dann noch undeutlich einzelne Fäden aus der diffusen Schicht erkennen (Abb. 5, oben). In anderen Fällen sind die Strukturen nach

Form und Feinheit optimal, jedoch viel weniger dicht. Seltener sind sie auch gröber (Abb. 5, unten).

Flächenschnitte gelangen mir wegen der Hinfälligkeit der Objekte nicht. Da die Cuticula völlig undurchsichtig ist, kann man Aufsichtspräparate nur durch vorsichtiges Abkratzen der Cuticula gewinnen. Die Dichte der Ektodesmen bei der Silbermethode entspricht etwa der von optimalen, nach der Sublimatmethode hergestellten Präparaten. Sie ist aber unter Umständen sogar größer und dann nur der der Plasmodesmen in den Endospermzellen von *Strychnos* zu vergleichen, dem wohl besten Objekt für die Darstellung von Plasmodesmen.

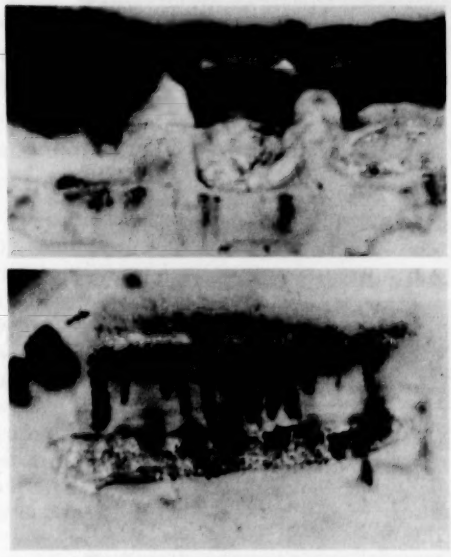


Abb. 5. Silberniederschläge in den Außenwänden von Epidermiszellen über Blattnerven bei *Tulipa gesneriana* (oben) und *Campanula persicifolia* (unten). Bei der Zelle unten ist die Cuticula abgefallen; etwa 900 ×

Die Ektodesmen der Silbermethode sind stets unverzweigt und nie ausgesprochen bogen- oder parabelförmig wie die Ektodesmen der Gilsonmethode. Oft sind sie perlschnurartig aufgelöst, vielleicht als Folge der bei der Präparation eintretenden Quellung der Außenwand. Wenn in solchen Fällen die Celluloseschichtung der Wand erkennbar ist, kann man sehen, daß die Teilstücke der Fäden in einer dichteren Schicht sitzen. In den weniger dichten Schichten ist hingegen der Faden unterbrochen. Diese Beobachtung kann man mitunter auch an Quecksilberektodesmen machen. Der tröpfchenförmige Zerfall nimmt in Dauerpräparaten mit der Zeit zu. Manchmal scheinen einzelne Ektodesmen dem Verlauf von Quellungslinien zu folgen. Es gibt jedoch Beispiele genug, um sicher sein zu können, daß sie mit diesen nichts zu tun haben.

In einem Blattstück treten meist Jod-Silberniederschläge sehr unterschiedlicher Qualität auf, völlig diffuse Fällungen und feine durchgehende Ektodesmen fast nebeneinander. Letztere findet man bevorzugt in Epidermiszellen der Blattnerven, also an Stellen, an denen sich auch mit der Gilsonmethode die Ektodesmen besonders leicht darstellen lassen. Einen Einfluß auf die Form der Niederschläge hat die Art des Eindringens der Reagentien auch hier. Es wurde schon erwähnt, daß die Objekte erst nach der Silberbehandlung geschnitten werden dürfen, sonst versagt

die Methode. Gute Ektodesmen findet man nun aber eigenartigerweise nicht wie bei der Gilsonmethode im Inneren eines Blattstückes, sondern in den Randzonen. Hier können die Lösungen auch durch die Wunde von der Seite her leichter in die Zelle eindringen. Das führt in der Regel zu folgender Erscheinung:

Die Außenwände der ersten Zellen am Schnittrand sind stark gequollen und bräunlich gefärbt. In ihnen sind keine Ektodesmen dargestellt. Es folgen Zellen mit einer etwas geringeren Wandquellung. In ihnen findet man die meisten und feinsten Ektodesmen. Je weiter die Zellen vom Rand entfernt sind, desto stärker bildet sich die erwähnte Schicht diffuser Niederschlagsbildung aus, oder desto spärlicher und gröber werden die Strukturen (sie werden jedoch niemals so dick wie manchmal die Ektodesmen der Quecksilbermethode). Im gleichen Maße nimmt die Quellung der Außenwand ab. Es ist also für die Darstellung von Ektodesmen mit der Silbermethode günstig, wenn die Blattstücke so zurechtgeschnitten werden, daß die Schnittränder in Nerven verlaufen.

Beachtet man alle diese Gesichtspunkte, so können mit dem Silberverfahren Ektodesmen bei vielen Pflanzen nachgewiesen werden, vorausgesetzt, daß ihre Außenwände nicht zu dünn sind. Hier können die entstehenden Niederschläge nicht sicher angesprochen werden. Wie es scheint, werden fädige Strukturen überhaupt erst von einer gewissen Wanddicke ab dargestellt. Die Methode versagt ferner bei Objekten mit nichtquellbaren Außenwänden (kutinisiert oder verkieselt). Es ist jedoch gelungen, im nichtkutinisierten Teil der mit einer sehr dicken Cuticula versehenen Blätter von *Evonymus japonica variegata* Ektodesmen nachzuweisen, also bei einem Objekt, bei dem die Quecksilbermethode versagt.

Als besonders geeignet für die Darstellung der Ektodesmen mit der Silbermethode erwiesen sich die verschiedenen Freiland-Cyclamen (*Cyclamen neapolitanum, C. ibericum, C. coum* usw.), ferner *Asarum europaeum, Ajuga reptans, Campanula persicifolia, Passiflora coerulea*, verschiedene Arten von *Primula, Bellis perennis* u. a. m. Bei anderen Objekten (*Cyclamen persicum, Helleborus*-Arten usw.) ließen sich trotz dicker Außenwände nur selten Ektodesmen nachweisen.

Die Glaubwürdigkeit der Silbermethode wird, ähnlich wie bei der Sublimatmethode, immer wieder durch offensichtlich andersartige Artefakte in Frage gestellt. So kann man in den Epidermisaußenwänden des Blattmedianus von *Campanula persifolia*, aber auch bei anderen Objekten, neben den Ektodesmen eigenartige, ebenfalls mehr oder weniger fadenförmige Jod-Silberniederschläge beobachten. Sie entspringen unter der Cuticula über den Antiklinen und laufen unter Umständen bis weit in diese hinein. Manchmal ziehen sie auch noch in die Perikline und umfassen, etwa dem Verlauf der Mittellamelle folgend, die Epidermiszelle fast. Oder sie erstrecken sich von der Antikline aus gerade weiter bis in die nächste Zelle. In vielen Fällen entspringen sie jedoch nicht direkt unter der Cuticula, sondern über dem Lumen. Dann laufen sie, einer Schichtungslinie folgend, bis zur Antikline, von wo sie die beschriebenen Wege einnehmen können. Diese Strukturen sind fädig bis bandförmig und häufig in der Ebene der Antikline bäumchenförmig

verästelt. Sie besitzen ferner nicht den feinen perlschnurartigen Bau der Ektodesmen, können also bei einiger Aufmerksamkeit nicht mit ihnen verwechselt werden. Über ihre Entstehung vermag ich noch nichts zu sagen. Da sis bevorzugt in der Mittellamelle auftreten, handelt es sich vielleicht um Fällungen an Stellen mit Pektin. Möglicherweise entsteht auch die Schicht diffuser Niederschläge unter der Cuticula durch das hier abgelagerte Cutin (SCOTT u. Mitarb. 1958).

Der Nachweis von Plasmodesmen zwischen den Zellen gelingt mit der Silbermethode ebenfalls. Sie ähnelt ja dem Verfahren von PFEIFFER-WELLHEIM, liefert allerdings ähnlich wie dort nur sehr unsichere Ergebnisse.

c) Die Veränderlichkeit der Ektodesmen der Silbermethode. Sicherer als der Nachweis der Plasmodesmen gelingt meist die Darstellung der Ektodesmen. Auch hier geben allerdings nur relativ wenig Zellen eines Schnittes (meist die Randzellen) befriedigende Resultate. Oftmals versagt die Methode aus unbekannten Gründen auch ganz. Das erschwert das Arbeiten mit ihr und macht sie für Reihenuntersuchungen ungeeignet.

Es lag nun die Vermutung nahe, daß die Launenhaftigkeit der Darstellung ebenso wie bei der Sublimatmethode auf vitale Vorgänge in der Pflanze zurückzuführen ist. In zahlreichen Experimenten suchte ich nach solch einer Abhängigkeit. Im einzelnen prüfte ich den Einfluß von Wetterschwankungen, Tagesrhythmus, Wärmebehandlung, starkem Tieffrieren, natürlichem Vergilben und besonders von Vergiftungen (vgl. S. 693). Die Darstellbarkeit der Ektodesmen mit der Sublimatmethode wurde stets in bekannter Weise beeinflußt. Bei der Silbermethode blieben die Ektodesmen jedoch immer unverändert. Selbst bei Blattstücken, in denen die Quecksilbermethode nur kurze, grobe Ektodesmen oder gar „Abbauformen" darstellt, können nach Anwendung der Silbermethode in Parallelblattstücken noch dichte, feine, durchgehende Ektodesmen dargestellt werden. Man wird daraus folgern müssen, daß die Veränderungen, die bei der Quecksilbermethode an den Ektodesmen beobachtet werden können, Veränderungen sind, die nicht die ganze Struktur selbst betreffen, sondern nur etwa die Reduktion des Sublimats beeinflussen, die ja die Grundlage des Nachweises ist. Dasselbe muß für die „Abbauformen" gelten, die ebenfalls nur mit Hg, nicht aber mit Ag, dargestellt werden können.

Weil mit dem Jod-Silberverfahren selbst in abgetöteten Zellen noch Ektodesmen dargestellt werden können (im Gegensatz zum Gilsonverfahren), kann man untersuchen, wieweit sie überhaupt gegen Stoffe resistent sind, von denen bekannt ist, daß sie „Plasma" zerstören und auflösen. Tatsächlich waren sie auch nach einer 8tägigen Behandlung der Blätter mit Chloralhydrat oder Eau de Javelle noch deutlich mit Silber darstellbar, obwohl das Cytoplasma im Inneren der Zellen stark geschädigt und fast völlig aufgelöst war. Parallel durchgeführte Kontrolluntersuchungen mit dem Plasmodesmennachweis nach der Jod-Pyoktaninmethode zeigten indessen, daß auch diese noch recht gut erhalten bleiben, wie dies bereits aus der Literatur bekannt ist (MÜHLDORF 1937, S. 204). Es besteht also bei den

Ektodesmen eine ähnliche Resistenz gegen Chloralhydrat oder Eau de Javelle wie bei den Plasmodesmen. Diese Befunde sprechen daher nicht gegen die Plasmanatur der Ektodesmen.

d) Vergleich von Silber- und Quecksilbermethode und die Frage der Identität der dargestellten Strukturen. Die Darstellung der Ektodesmen mit Hg wird bekanntlich vom Lebenszustand der Objekte wesentlich beeinflußt, also auch durch Faktoren, die allgemein Änderungen im vitalen Geschehen der Pflanzen herbeiführen. Einen Einfluß vitaler Zustandsänderungen auf die Darstellung der Ektodesmen mit Ag konnte ich dagegen nicht finden. Auf gewisse Folgerungen hieraus wird später noch einzugehen sein.

Die Form der mit Quecksilber dargestellten Ektodesmen schwankt stark (wiederum eine Folge von äußeren und inneren Einflüssen). Sie ändert sich bei den Ektodesmen der Silbermethode in der Regel nur insofern, als die Strukturen mehr oder weniger deutlich aus einer Zone diffuser Niederschläge hervortreten. Umweltfaktoren scheinen darauf keine Wirkung zu haben.

Die Ektodesmen der Quecksilbermethode sind oft parabelförmig und mitunter verzweigt, die mit Silber dargestellten Ektodesmen gerade oder nur leicht gekrümmt. Auch in Objekten, bei denen das Quecksilberverfahren die Strukturen nur spärlich und grob oder als „Abbauformen" darstellt, lassen sich mit der Silbermethode feine, dichte, durchgehende Ektodesmen darstellen.

Andererseits sind die Strukturen bei manchen Objekten (*Cyclamen persicum*, *Helleborus*-Arten) gleich schwer darzustellen. Weiterhin ist beachtenswert, daß nach einer vorhergehenden Gilsonfixierung keine Ektodesmen mit Silber mehr dargestellt werden können, wohl aber nach anderen Fixierungen, z. B. mit Formol, Alkohol-Eisessig usw. Offenbar besetzt der sich bildende Hg-Niederschlag dieselben Stellen, die auch für eine Jodierung in Frage kommen.

Insgesamt ist trotz aller Unterschiede im Detail die Form der Strukturen bei beiden Verfahren sehr ähnlich. Beide Verfahren verhalten sich auch ähnlich beim Nachweis von Plasmodesmen. Ich möchte unter Abwägung aller dieser Befunde daher doch annehmen, daß beide Verfahren Abbilder der gleichen plasmatischen Struktur geben, die allerdings in verschiedener Weise dargestellt, vergröbert und abgefälscht wiedergegeben wird.

3. Über die Darstellung der Ektodesmen mit einer Jod-Pyoktaninmethode

Aus dem Vorstehenden geht hervor, daß es gelingt, lediglich nach einer Jodfixierung und nachfolgender Durchtränkung mit Silber Ektodesmen darzustellen. Nun lag es nahe, zu versuchen, die mit Jod imprägnierten Strukturen auch mit Pyoktanin statt mit Silber sichtbar zu machen und damit dem Plasmodesmennachweis nach Meyer sehr nahe zu kommen. Es wird allgemein angenommen,

daß sich dabei das Pyoktanin an das in den Plasmodesmen angereicherte Jod anlagert. Wenn die Ektodesmen also das gleiche Speichervermögen für Jod wie die Plasmodesmen besitzen, müßten sie nach einer Pyoktaninfärbung ebenfalls sichtbar werden.

Es gelang in der Tat, nach einer Fixierung von Blattstücken in einer starken Jod-Jodkaliumlösung (Konzentration wie bei den Silberversuchen), Färbung in Pyoktanin und anschließendem Schneiden auf dem Gefriermikrotom, einige Male Ektodesmen in Epidermiszellen des Medianus von *Campanula persicifolia*, am Rande des Blattstückes, nachzuweisen. Die Ergebnisse waren jedoch nicht immer reproduzierbar, auch andere Objekte versagten. Dieser Befund ist daher nur als Bestätigung unserer Grund-Voraussetzung zu werten.

4. Über die Darstellung der Ektodesmen mit einer Jod-Schwefelsäuremethode

MÜHLDORF (1937, S. 192) hat mit Recht darauf hingewiesen, daß man sich bei der Untersuchung von Plasmodesmen niemals einer einzigen Methode anvertrauen sollte. Er sieht in der Jod-Schwefelsäuremethode die beste und natürlichste Darstellungsart für Plasmabrücken (die Schnitte werden mit Jod-Jodkaliumlösung fixiert und dann in starker Schwefelsäure [80%] gequollen. Dabei wird die Cellulose blau, und die Plasmodesmen heben sich darin braun ab). Mit dieser Methode konnten auch SCHUMACHER u. HALBSGUTH bereits 1939 in den Außenwänden von *Cuscuta*-Hyphen, die im Wirtsgewebe wucherten, Ektodesmen nachweisen. Die Darstellung gelang jedoch nur dort.

Auch F. M. SCOTT (1946, 1949, 1951) sowie SCOTT, SCHROEDER u. TURELL (1948) und SCOTT, HAMNER, BAKER u. BOWLER (1958) bedienten sich bei der Untersuchung von Plasmodesmen dieses Verfahrens. Sie fanden 1948, daß hiermit ähnliche Strukturen auch in Außenwänden von Blättern bei *Citrus sinensis* sichtbar gemacht werden können. Diese Außenwände sind cutinisiert und mit Wachs bedeckt. Das Wachs soll durch Kanälchen ausgeschieden werden, die offenbar nichts anderes als Ektodesmen sind. "On treatment of sections with JKJ-H_2SO_4 it is evident, that these canals are lined with protoplasmatic threads similar to plasmodesmata." 1951 schrieb SCOTT: "In the fully opened flowers of Cymbidium the cuticle of both upper and lower epidermis of petals is about 1 μ thick. In surface view it is marked by . . . disks, plugs of cutin-like material, which block the exit of plasmodesmatal canals." In einer kürzlich erschienenen Arbeit berichten sie und ihre Mitarbeiter (1958) von Plasmodesmen in Epidermisaußenwänden bei Blättern und sogar Wurzeln von *Allium cepa*.

Gelegentliche eigene Versuche, diese Befunde mit der angegebenen Methode zu reproduzieren, schlugen fehl. Doch braucht auch diese Methode vielleicht eine längere Einarbeitung. Ich konnte damit nur einige Male Plasmodesmen zwischen zwei benachbarten Protoplasten darstellen. Ich fand allerdings auch hierbei das Verfahren sehr unzuverlässig. Es besteht außerdem dabei die Möglichkeit, daß Tüpfelfüllungen Plasmodesmen und Ektodesmen vortäuschen, was bekanntlich schon früher zu manchen irrtümlichen Angaben geführt hat. Die in den Zeichnungen (ohne photographische Belege) von SCOTT ziemlich grob und sehr spärlich dargestellten Strukturen deuten darauf hin,

daß dies auch bei ihr nicht ausgeschlossen werden kann. Es ist daher nicht ganz zu verstehen, daß A. D. J. Meeuse (1957) in seinem Sammelreferat über Plasmodesmen in der „Protoplasmatologia" gerade die Befunde Scotts als besonders eindrucksvolle Beweise für die Existenz von Plasmodesmen in den Außenwänden von Epidermiszellen, also für Ektodesmen, ansieht.

5. Untersuchungen mit dem Elektronenmikroskop

Um den Feinbau der Ektodesmen weiter aufzuklären und um weitere Hinweise über ihre Natur zu gewinnen, führte ich neben lichtmikroskopischen erneut auch elektronenmikroskopische Untersuchungen durch[1], obwohl vorausgegangene Versuche von Lambertz in Zusammenarbeit mit Mühlethaler erfolglos geblieben waren (Schumacher 1957).

a) Elektronenoptische Untersuchungen nach Fixierung mit Sublimat. Ich ging zunächst von Objekten aus, die nach der üblichen Sublimatmethode fixiert waren. In diesen bleiben die Strukturen, wenn man sie nicht mit Jodkalium behandelt, auch nach Entwässerung und Einbettung in Paraffin lichtmikroskopisch sichtbar, wenn ihr Bild auch unklarer erscheint (Lambertz 1954).

Nach der Fixierung wurden daher die Blattstücke, ohne die Jodkaliumbehandlung zwischenzuschalten, durch eine Alkoholreihe entwässert und in ein Gemisch von Methyl- und Butylmethacrylat 1:3 + 1% Benzoylperoxyd als Starter eingebettet. Während der Polymerisation richtete ich die Objektstücke bei zähhonigartiger Konsistenz des Methacrylats in den Gelatinekapseln aus. Nach dem Festwerden der Blöcke prüfte ich lichtmikroskopisch an Schnitten durch das Polymerisat die Erhaltung der Objekte.

Eine kleine Auswahl aus etwa 100 Aufnahmen sind in den Abb. 6 bis 10 wiedergegeben. Auf den Querschnitten durch die Außenwand der Abb. 6 und 7 erkennt man oben die völlig homogen und dunkel erscheinende Cuticula. Sie hat sich häufig etwas von der Wand abgelöst, wohl infolge der Schrumpfung des Objektes während der Entwässerung und Polymerisation. An ihr befinden sich einige kristalline Partikel, die wahrscheinlich von der oberflächlichen Verschmutzung des Blattes oder von der Fixierung herrühren.

Im Zellumen sind in den der Wand nahen Teilen einige Cytoplasmareste zu erkennen. Bei ihnen ist keinerlei Feinstruktur erhalten geblieben,

[1] Die elektronenmikroskopischen Untersuchungen konnte ich im Zentrallaboratorium für angewandte Übermikroskopie der Universität Bonn (Leitung: Dr. K. E. Wohlfarth-Bottermann) durchführen. Zur Herstellung der Ultradünnschnitte stand mir ein Ultramikrotom nach Sitte zur Verfügung. Ich benutzte Metall- und Glasmesser. Die Aufnahmen wurden mit einem Siemens-Übermikroskop 100d bei 80 kV gemacht. Ich möchte auch hier Herrn Priv.-Doz. Dr. K. E. Wohlfarth-Bottermann für seine Hilfsbereitschaft und für die Beratung bei der Präparation sowie Frau K. Joppen für die Anfertigung der Aufnahmen danken.

eine Folge der an sich ja für die Elektronenmikroskopie von Protoplasma ungeeigneten Sublimatfixierung. Von der Cuticula zum Lumen

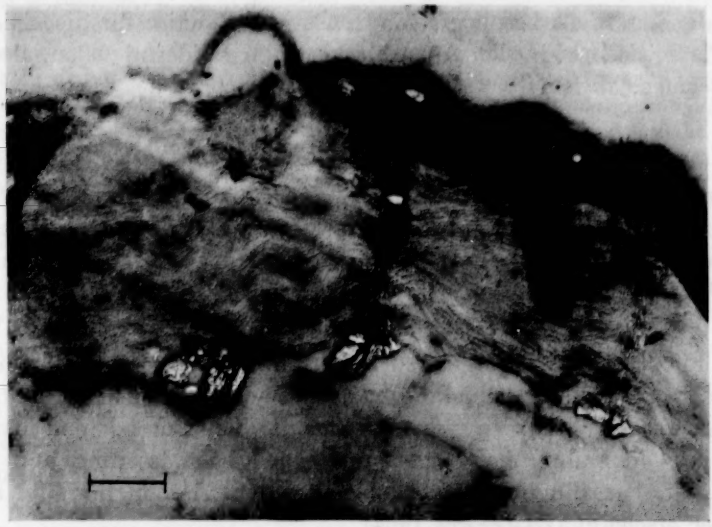


Abb. 6. Querschnitt durch die Außenwand einer Epidermiszelle der Blattoberseite von *Primula veris ssp. macrocalyx* mit einem ganz und zwei teilweise getroffenen Ektodesmen sowie Falten (schwarz). Gilsonfixierung. Elt. opt. 5400 ×, Endvergr. 10 000 ×. Marke 1 μ (seitenverkehrt)

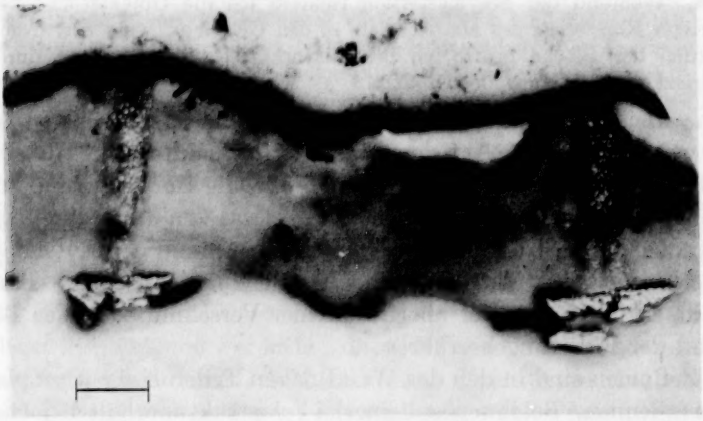


Abb. 7. Querschnitt durch die Außenwand einer Epidermiszelle der Blattoberseite von *Primula veris ssp. macrocalyx* mit 2 Ektodesmen. Gilsonfixierung. Elt. opt. 5400 × Endvergr. 10 000 ×. Marke 1 μ (seitenverkehrt)

ziehen aber einige feingegliederte Strukturen, die mit den Ektodesmen der Sublimatmethode identisch sein müssen.

Besonders auf den Abb. 6 und 8 erkennt man den Aufbau der Celluloseaußenwand aus miteinander vernetzten Lagen von Fibrillen,

Abb. 8. Ektodesmos in der Außenwand einer Epidermiszelle der Blattoberseite von *Primula veris ssp. macrocalyx*. Gilsonfixierung. Elt. opt. 11400 ×, Endvergr. 37000 ×. Ausschnitt aus Abb. 6. Marke 1 μ

Abb. 9. Ektodesmos in der Außenwand einer Epidermiszelle der Blattoberseite von *Primula veris ssp. macrocalyx*, im unteren Teil aufpinselnd. Gilsonfixierung. Elt. opt. 11400 ×, Endvergr. 42000 ×. Ausschnitt aus Abb. 7. Marke 1 μ

fein und dicht im Außenteil, weitmaschiger und gröber im Innenteil der Wand. Diese Wandkontrastierung ist offenbar durch die Einlagerung von Sublimat während der Fixierung entstanden. Fixierungen mit OsO_4, Formol usw. stellen den Wandbau nicht so deutlich dar. Weitere Untersuchungen müssen zeigen, ob sich das Kontrastmittel in die Mikrocapillaren zwischen die Fibrillen bzw. Mikrofibrillen eingelagert hat (es entsteht dadurch ein negatives Bild der Cellulosestränge) oder ob es sich direkt an die Cellulosemoleküle bzw. in die intermicellaren Räume eingelagert hat (es entsteht ein positives Bild der Cellulose-

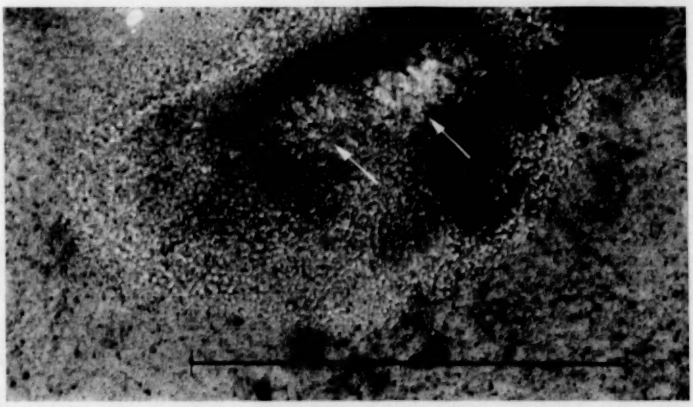


Abb. 10. Schräger Flächenschnitt durch die Außenwand einer Epidermiszelle von *Primula veris ssp. macrocalyx*. Ein Ektodesmenpaar (mit Pfeilen markiert) durchschnitten, darum Bildung eines „Hofes". Gilsonfixierung. Elt. opt. 11400 ×, Endvergr. 57000 ×. Marke 1 μ

stränge, vgl. Asunmaa 1955). Gegenüber anderen Methoden zur Zellwandkontrastierung zeichnet sich die Sublimatmethode durch besonders leichte Durchführbarkeit aus.

Die Ektodesmen zeigen im groben den Bau, wie ihn schon Lambertz (1954, Abb. 14) auf Grund seiner lichtmikroskopischen Beobachtungen schematisch dargestellt hat. Man erkennt die Parabelform (Abb. 9), die Doppelfadenstruktur (Abb. 8 und 10) und die Aufpinselung zum Lumen hin (Abb. 9), wenn auch auf den Querschnitten durch die Wand die Schnittführung nicht genau in der Parabelebene bzw. der Ebene der Doppelfadenstruktur lag, so daß jeweils nur ein Ast der Figur vollständig zu sehen ist. An der Innenseite der Zellwand befindet sich das „Endknötchen" der lichtmikroskopischen Beobachtungen. Es ist aus relativ groben Schollen (Sublimatkristalle?) zusammengesetzt.

Jeder einzelne Ast eines Ektodesmos besteht aus einer ganzen Anzahl feinster Fibrillen. Diese ziehen offensichtlich ohne größere Kanäle, wohl unter Benutzung der Mikrocapillaren, durch das Cellulosegerüst der Wand. Demgegenüber ist es von Plasmodesmen bekannt, daß sie in offenen Kanälen verlaufen. Allerdings zeigten kürzlich Scott, Hamner, Baker u. Bowler (1958) elektronenoptische Aufnahmen von Epidermisaußenwänden macerierter Zellen (Bedampfungsmethode) mit

zum Teil submikroskopischen Tüpfeln. Diese scheinen jedoch nicht die ganze Wand zu durchsetzen, sondern nur ein Stück in sie hineinzulaufen, so daß nicht klar ist, ob sie etwas mit Ektodesmen zu tun haben. Die Schollen an der Innenseite der Außenwand und die kleinen, hellen, runden Flecke zwischen den Fibrillen selbst bestehen aus Ablagerungen von Quecksilber bzw. aus Quecksilberverbindungen mit dem Substrat der Ektodesmen, aus denen das Metall unter dem Einfluß der Elektronenbestrahlung verdampft ist. Bei vorsichtigem Arbeiten mit niedrigen Strahlintensitäten kann man diesen Vorgang direkt auf dem Bildschirm verfolgen.

Um den Ektodesmos ist in einigen Aufnahmen ein „Hof" zu erkennen (Abb. 9 und 10), der gegen die Wand durch einen Streifen aus feinen Körnchen abgegrenzt ist. Seine Natur ist nicht ohne weiteres zu klären.

Die Cuticula läßt über den Ektodesmen weder Poren noch Dünnstellen erkennen. Auch bei abgelösten Cuticeln konnte ich elektronenoptisch bisher keine Poren und Dünnstellen finden, im Gegensatz zu manchen anderen Autoren, jedoch in Übereinstimmung mit z. B. SCOTT u. Mitarb. (1958). Die Frage, wo die verschiedensten Stoffe, deren Durchtritt durch die Epidermis heute erwiesen ist, die Cuticula und Außenwand passieren, kann also noch immer nicht klar beantwortet werden.

Die Abbildungen zeigen insgesamt, daß die Quecksilberniederschläge an den Ektodesmen nicht allein aus nadelförmigen Kristallen bestehen, die durch Ausbildung eines Kristallkeimes an der Cuticula beginnen und dann in der Diffusionsrichtung der Gilsonlösung weiterwachsen, wie das bei einem reinen Kristallisationsphänomen der Fall sein würde. Sie bilden sich offensichtlich in oder an einer Struktur, mit der sie reagieren. Dagegen ist die Struktur selbst wie besonders das Endknötchen wahrscheinlich durch Kristallisationsvorgänge bei der Reaktion mit dem Fixierungsmittel stark vergröbert.

Bei lichtmikroskopisch groben, kurzen Ektodesmen waren im Elektronenmikroskop in der Struktur wegen der starken Niederschlagsbildung keine Einzelheiten zu erkennen, auch in den darunter befindlichen Wandteilen traten keine besonderen Differenzierungen (Kanäle usw.) auf.

b) Elektronenoptische Untersuchungen nach Darstellung der Ektodesmen mit der Silbermethode. Die Abbildung der nach der Silbermethode dargestellten Ektodesmen mit dem Elektronenmikroskop ist schwieriger, da das Verfahren ja nur sehr unsichere Ergebnisse liefert. Trotzdem konnten auch von diesen Strukturen bei *Cyclamen neapolitanum* einige Aufnahmen gemacht werden. Lichtoptisch waren die Ektodesmen etwas grob und nicht sehr dicht.

Die Blattstücke wurden fixiert, mit $AgNO_3$ behandelt (s. S. 658), entwässert und in das Methacrylatgemisch eingebettet. Bei der Untersuchung der Dünnschnitte im Elektronenmikroskop konnte man das

Schmelzen der relativ groben Jod-Silberkriställchen, das Entstehen größerer Tröpfchen und das Verdampfen dieser Tropfen auf dem Leuchtschirm unmittelbar beobachten. Statt der Kristalle blieb ein Maschenwerk in der Wand direkt unter der Cuticula und in der Cuticula selbst zurück, das sicher nicht eine reale Struktur wiedergibt.

Abb. 11 (nach längerer Bestrahlung photographiert) zeigt in den oberen Partien diese Schicht diffuser Niederschlagsbildung unter der Cuticula, die anfänglich völlig undurchstrahlbar war. Aus ihr entspringen indessen einige Ektodesmen, durchqueren die Wand und endigen am Lumen teilweise mit einem kleinen Endknötchen. Auch Anschnitte von Ektodesmen sind zu sehen. Nur undeutlich ist der Schichtenbau der Außenwand zu erkennen. Relativ feine Jod-Silber-Partikel haben sich in der Cuticula gebildet.

Abb. 11. Querschnitt durch die Außenwand einer Epidermiszelle eines Blattnerven von *Cyclamen neapolitanum*. Jod-Silbermethode, mehrere Ektodesmen, teils angeschnitten. Elt. opt. 1200 ×, Endvergr. 5800 ×. Marke 1 μ

Die Aufnahmen (Abbildung 11) zeigen klar, daß auch hier die Ektodesmen nicht durch einseitig gerichtetes, reines Kristallwachstum entstehen, sondern daß eine Struktur vorhanden sein muß, an der sich das Jod bzw. das Silber niederschlägt. Weitere Einzelheiten konnten jedoch daran nicht erkannt werden.

c) Elektronenoptische Untersuchungen nach Fixierung mit Osmiumtetroxyd. Die Fixierung mit isotonischer, gepufferter OsO_4-Lösung gilt ganz allgemein als die zur Zeit beste Methode zur Strukturerhaltung des Cytoplasmas. Als erste bildeten mit dieser Methode Hodge u. Mitarb. (1957), Strugger (1957a und b) (vgl. auch Mühlethaler 1956, Abb. 4), teilweise nach Kontrastierung mit Uranylacetat, Plasmodesmen auch elektronenoptisch ab.

In einer Reihe von eigenen Versuchen gelang es mir bisher noch nicht, zu klären, ob sich auch die Ektodesmen durch diese Methode elektronenoptisch darstellen lassen, obwohl ja anzunehmen ist, daß sie reich an Lipoiden und Phosphatiden sind (LAMBERTZ 1954). Aus den bisher gewonnen Aufnahmen geht mit Sicherheit nur hervor, daß das Cytoplasma überall eng mit den inneren Teilen der Außenwand verzahnt ist. Über eine völlige Durchsetzung der Epidermisaußenwände

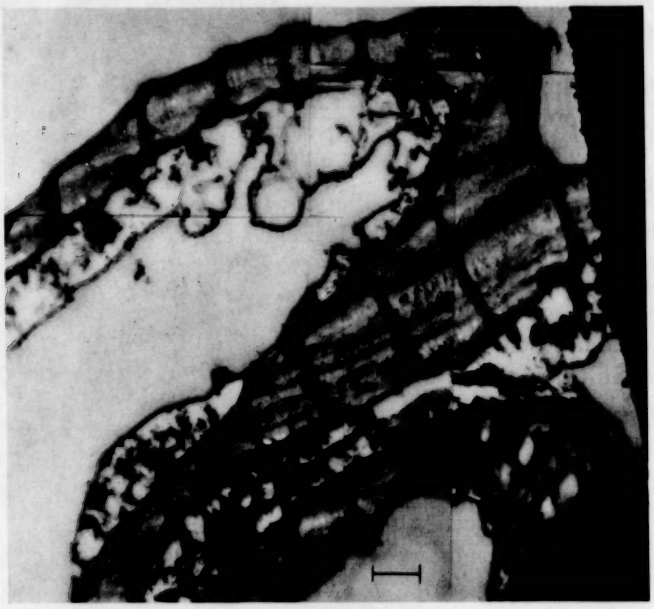


Abb. 12. Faltenbildung in der Zellwand. Blattquerschnitt, *Cyclamen persicum*. Osmiumfixierung. Vergr. 5800 ×. Marke 1 μ

mit Plasma lassen sich auf Grund dieser Aufnahmen noch keine Aussagen machen. Die Versuche werden fortgesetzt.

Lichtoptisch sind ja auch bei den früheren Untersuchern alle Versuche mit OsO_4 gescheitert, was sicherlich mit ein Grund dafür ist, warum die Ektodesmen so lange nicht aufgefunden wurden. Über die Ursache dieses gewiß merkwürdigen Verhaltens der Ektodesmen kann noch nichts gesagt werden. Es macht aber alle bisherigen Angaben von anderer Seite über gelungene elektronenoptische Darstellungen sehr zweifelhaft.

d) Artefakte. So veröffentlichten 1956 HUBER, KINDER, OBERMÜLLER u. ZIEGENSPECK elektronenoptische Aufnahmen von Dünnschnitten durch die Epidermis und den Spaltöffnungsapparat von *Helleborus niger*-Blättern, die sogar in die Neuauflage von KÜSTERS „Zelle" übernommen wurden. Sie fanden in den Außen- und Innenwänden, besonders in den Wänden der Schließzellen, kräftige, undurchstrahlbare Linien, die sie als von osmiumgeschwärztem Plasma dicht erfüllte Tüpfelkanäle bzw. als osmiumgeschwärzte Plasmodesmen und Ektodesmen

deuteten. Sie werfen wohl die Frage auf, ob es sich dabei nicht vielleicht um Faltungen der Schnitte handelt. Sie glauben aber aus Lage, Form und elektronenoptischer Dichte der Strukturen den Schluß ziehen zu müssen, daß es sich nicht um Artefakte, sondern um plasmatische Strukturen handelt. Ähnliche Bilder veröffentlichten Hassenkamp u. Liese (1957) und Ziegler (1958).

Neuere elektronenoptische Aufnahmen von Plasmodesmen zeigen jedoch, daß diese sehr viel feiner und längst nicht so elektronendicht sind wie die von den obengenannten Autoren dargestellten Strukturen. Ich fand ebensolche Gebilde auch nach Sublimatfixierungen (Abb. 6). Es kann sich daher nicht um osmiumgeschwärztes Plasma handeln, sondern nur um Faltungen bzw. Zusammenschiebungen der Wände, die eine reine Folge des Schneidens sind. Sie entstehen nur in Wänden, vermutlich wegen ihrer mangelhaften Durchtränkung mit Methacrylat. Sie bilden sich stets mehr oder weniger senkrecht zur Schnittrichtung aus und durchsetzen Wände, die parallel zur Messerkante liegen, mitunter sogar in der Längsrichtung (Abb. 12), was eine Deutung als Ektodesmen bzw. Plasmodesmen völlig abwegig erscheinen läßt. Die Autoren haben sich also wohl durch Artefakte täuschen lassen. Wer die vorstehend veröffentlichten Aufnahmen und ebenso die lichtoptischen Bilder etwa mit Abb. 12 vergleicht, kann nicht im Zweifel sein, daß es sich hier um etwas völlig anderes handelt. In einer jüngst erschienen Arbeit weist auch Sitte auf die artifizielle Entstehung dieser Gebilde hin, die daher künftig nicht mehr mit den plasmatischen Strukturen verwechselt werden sollten.

II. Untersuchungen über die Beeinflußbarkeit der Ektodesmendarstellung

Als eine der Ursachen für die „Launenhaftigkeit" des Ektodesmennachweises ist durch die Untersuchungen von Lambertz (1954) der vielfältige Einfluß von Umweltfaktoren bekanntgeworden. Er stellte eine Abhängigkeit des Nachweises z. B. von Tagesrhythmus und Wetterlage fest. Es lag nun nahe, auch noch andere Faktoren als die von Lambertz geprüften in ihrer Wirkung auf die Ektodesmen zu untersuchen. Damit sollten weitere Hinweise über die Art der Veränderlichkeit und die Natur der Ektodesmen gewonnen werden. Ich führte diese Versuche fast ausschließlich mit der Sublimatmethode durch, nur in einigen Fällen wurden Kontrolluntersuchungen mit der Silbermethode angeschlossen.

Die starke Formveränderlichkeit der Strukturen der Quecksilbermethode und die Art der Veränderungen weckten bald den Verdacht, daß es sich zumindest bei einem Teil der Veränderungen nicht um ein Einziehen und Ausstrecken der Ektodesmen handelt. Deshalb erwies es sich im folgenden als vorteilhaft, die Beurteilung von Präparaten nicht allein nach der Quantität durchzuführen, wie es Lambertz (1954) und Schumacher u. Lambertz (1956) bevorzugten, sondern stets auch die Qualität der Strukturen mit zu berücksichtigen. Für eine übersichtliche Darstellung der Versuchsergebnisse bereitet das natürlich Schwierigkeiten, da viele Einzelheiten beachtet werden müssen und qualitative Änderungen zahlenmäßig nur schlecht erfaßt werden können. Die Art der Beurteilung wechselt daher von Fall zu Fall und richtet sich nach den Gegebenheiten des Versuchs.

Alle Strukturen, die von der Cuticula bis zum Lumen reichen, will ich dabei als „durchgehende" oder „ganze" Ektodesmen (ganz) bezeichnen. Alle die, die von der Cuticula aus nur mehr oder weniger weit in die Wand ziehen, das Lumen

aber nicht erreichen, als „halbdurchgehende" (halb), wenn sie noch kürzer sind, als „kurze" Ektodesmen (kurz). Wenn aus durchgehenden Ektodesmen kurze werden, sprechen wir von „Verkürzung", umgekehrt von „Verlängerung". „Abbauformen" (Abbau) sind solche Strukturen, die vom Lumen aus in die Außenwand gehen, aber die Cuticula nicht erreichen, und deren Zustandekommen nicht offensichtlich durch seitliches Eindringen der Gilsonlösung in die Zelle bedingt ist. „Zerfallsformen" sind scheinbare Reste von Ektodesmen, die weder Cuticula noch Lumen erreichen, „formlose Niederschläge" (formlos) flächige bis klumpige Gebilde mehr oder weniger parallel der Cuticula.

1. Versuche mit welkenden und sich wieder mit Wasser aufsättigenden Blättern

Mit diesen Versuchen sollte zweierlei geprüft werden: 1. ob und wie die Ektodesmen durch Änderung der Wassersättigung beeinflußt werden, 2. ob eventuell ein Einfluß der Ektodesmen auf die cuticuläre Transpiration und die Wasseraufnahme durch die Cuticula festzustellen ist. HÄRTEL (u. a. 1956) glaubte zwar aus seinen Versuchen über die Beeinflußbarkeit der Cuticularquellung schließen zu müssen, daß das lebende Protoplasma keinen Einfluß auf die Stärke der cuticulären Transpiration hat. Andererseits sprechen Befunde z. B. von SCHMUCKER (1928) für die Beteiligung einer „aktiven Wasserausscheidung" bei der Transpiration.

a) Material und Methode. Als Hauptversuchsobjekte dienten in der Regel Blätter von *Primula veris ssp. macrocalyx*. Die bei dieser Pflanze gewonnenen Ergebnisse wurden durch andere Objekte (u. a. *Primula pulverulenta* und *Passiflora coerulea*) bestätigt.

Zum Welken hängte ich ganze Blätter oder einander entsprechende Blattstücke (mindestens etwa 3 × 3 cm groß) an kleinen Drahthaken im Laboratorium auf. Die Evaporation wurde manchmal mit einem Ventilator beschleunigt. Der Wasserverlust wurde durch Wägung mit einer Torsionswaage bestimmt, alle Gewichte wurden auf das Frischgewicht = 100 bezogen.

Die meist relativ starken Wasserverluste führten in der Regel wohl zu einem mehr oder weniger vollständigen Spaltenschluß. Es kann jedoch nicht entschieden werden, ob die Transpiration der gewelkten Blattstücke zum Zeitpunkt der Fixierung jeweils ganz cuticulär war.

Um die gewelkten Blätter wieder turgescent werden zu lassen, legte ich sie in Petrischalen mit der Oberseite auf destilliertes Wasser. Die Wundränder wurden dabei nicht abgedichtet, so daß die Wasseraufnahme sowohl von dort wie durch die Cuticula erfolgen konnte.

Die Veränderung der Ektodesmen wurde nach dem Gesamteindruck beurteilt. Daneben versuchte ich, das Auftreten der verschiedenen Formen statistisch zu erfassen. Ich berücksichtigte dafür nur Epidermiszellen der Blattoberseite aus Intercostalfeldern, doch verhielten sich die der Blattunterseite und der Adern ähnlich. Die großen Streuungen innerhalb der einzelnen Schnitte machten es unmöglich, diese als Ganzes zu erfassen. Es wurden daher von den jeweils etwa 50 Schnitten jedes Präparates meist 100, in einigen Fällen auch nur 50 0,2 mm lange Zonen (1 Gesichtsfeld bei 100facher Vergrößerung) bonitiert, die ich wahllos einstellte. Ich verwendete nur einheitliches Blattmaterial und verwarf bei Blatt-

stücken die stärker ausgetrockneten Blattränder. Dennoch traten mitunter recht erhebliche Schwankungen innerhalb von Blattstücken und Parallelversuchen auf.

Die Veränderungen der Dichte waren meist weit weniger bedeutend als die Veränderungen der Form der Ektodesmen. Deshalb wurde auf eine Erfassung der Dichte meistens verzichtet.

b) Versuche mit welkenden Blättern. Zunächst sei aus einer Anzahl ähnlich verlaufener Versuche mit jungen Blättern eine Reihe von zwei Versuchen angeführt:

Versuch 525 (Auszug aus dem Versuchsprotokoll). Am 17. 10. 56, 14 Uhr (bedeckt, + 17° C), wurden zwei junge, gerade ausgewachsene Blätter von *Primula veris ssp. macrocalyx* aus dem Freiland geholt und in gleiche Stücke zerschnitten, von denen je eins (a) sofort fixiert, das zweite (b) in eine Petrischale auf destilliertes

Tabelle 1. *Versuch 525*

		Gewichtsverlust %	Ektodesmen					
			0	kurz	halb	ganz	Abbau	formlos
Blatt 1	a Kontrolle . .		—	1	4	95	—	—
	b auf Wasser . .		8	1	57	34	—	—
	c gewelkt . . .	47	8	41	23	10	18	—
Blatt 2	a Kontrolle . .		1	2	4	91	2	—
	b auf Wasser . .		1	1	40	58	—	—
	c gewelkt . . .	46	1	34	14	39	12	—

Wasser gelegt und das dritte (c) gewogen und zum Welken aufgehängt wurde. Nach 20 Std Welken wurde c nach Feststellung des Gewichtsverlustes fixiert, nach 22 Std auf Wasser b. Es wurden je 100 Einzelbonitierungen vorgenommen. Das Ergebnis zeigt Tabelle 1.

Wie man sieht, verändern sich in diesem Versuch die Ektodesmen schon durch das lange Liegen auf Wasser (das kann, braucht aber nicht so zu sein): Stellen mit durchgehenden Ektodesmen nehmen zugunsten von solchen mit kürzeren ab, d. h., die Ektodesmen verkürzen sich. Die Verkürzung verstärkt sich jedoch bedeutend in den welkenden Blattstücken. Daneben treten in den gewelkten Blattstücken Abbauformen auf, die in den Kontrollen praktisch fehlen. Die Färbung der Ektodesmen, auch der durchgehenden, ist bei den gewelkten Blattstücken kräftiger, dabei sind sie aber meist unscharf begrenzt. Bei den Proben auf Wasser sind die Strukturen schwächer als am Anfang gefärbt. Über eine Veränderung der Zahl ist wegen der starken Formänderung nur schwer eine Aussage zu machen, sie ist wohl aber nicht sehr groß.

Alte Blätter verhalten sich in ihrem Welken bei gleichen Evaporationsbedingungen anders als junge, auch ihre Ektodesmen reagieren anders, wie Versuch 466 zeigt.

Versuch 466 (Auszug aus dem Versuchsprotokoll). Am 22. 9. 56, 13^{15} Uhr (sonnig, + 25° C), wurden zwei junge, gerade ausgewachsene, und drei alte, noch nicht vergilbte Blätter von *Primula veris ssp. macrocalyx* aus dem Freiland geholt,

längs halbiert, eine Blatthälfte (a) in eine Petrischale auf destilliertes Wasser gelegt, die andere (b) gewogen und zum Welken aufgehängt. Verstärkung der Evaporation durch einen Ventilator, der in 60 cm Abstand aufgestellt wurde. Nach 8 Std wurde bei b der Gewichtsverlust festgestellt und beide Blatthälften fixiert. Das Ergebnis ist in Tabelle 2 dargestellt.

Dieser Versuch läßt folgendes erkennen: Junge Blätter haben relativ viele Stellen mit nicht völlig durch die Wand gehenden Ektodesmen. Alte Blätter besitzen dagegen „längere" Ektodesmen. Ein Wasserverlust von nur etwa 30% beeinflußt bzw. schädigt bei jungen Blättern die Ektodesmen so gut wie gar nicht. Hierzu sind stärkere Verluste

Tabelle 2. *Versuch 466*

		Gewichtsverlust %	Ektodesmen					
			0	kurz	halb	ganz	Abbau	formlos
Blatt 1 (jung)	a auf Wasser		10	8	20	62	—	—
	b gewelkt . .	30	18	11	7	64	—	—
Blatt 2 (jung)	a auf Wasser		6	5	17	70	2	—
	b gewelkt . .	33	6	16	5	70	3	—
Blatt 3 (alt	a auf Wasser		6	6	5	81	2	—
	b gewelkt . .	44	7	34	8	1	45	5
Blatt 4 (alt)	a auf Wasser		1	—	—	98	1	—
	b gewelkt . .	50	9	18	—	—	46	27
Blatt 5 (alt)	a auf Wasser		1	1	41	44	13	—
	b gewelkt . .	57	8	—	—	—	46	46

notwendig. Bei gleichen Evaporationsbedingungen verlieren alte Blätter weit mehr Wasser als junge. Das ist wahrscheinlich auf eine größere Permeabilität der Cuticula zurückzuführen (KAMP 1930). Einen besonders geringen Transpirationswiderstand haben Blätter, in denen schon in frischem Zustand die Ektodesmen teilweise als „Abbauformen" ausgebildet sind (vgl. S. 650). Das scheint mir doch, entgegen der Meinung HÄRTELs, auf eine gewisse Beziehung zwischen cuticulärer Transpiration, Plasmazustand und damit auch Ektodesmenzustand hin zu deuten, wobei der Zusammenhang nicht unmittelbar zu sein braucht.

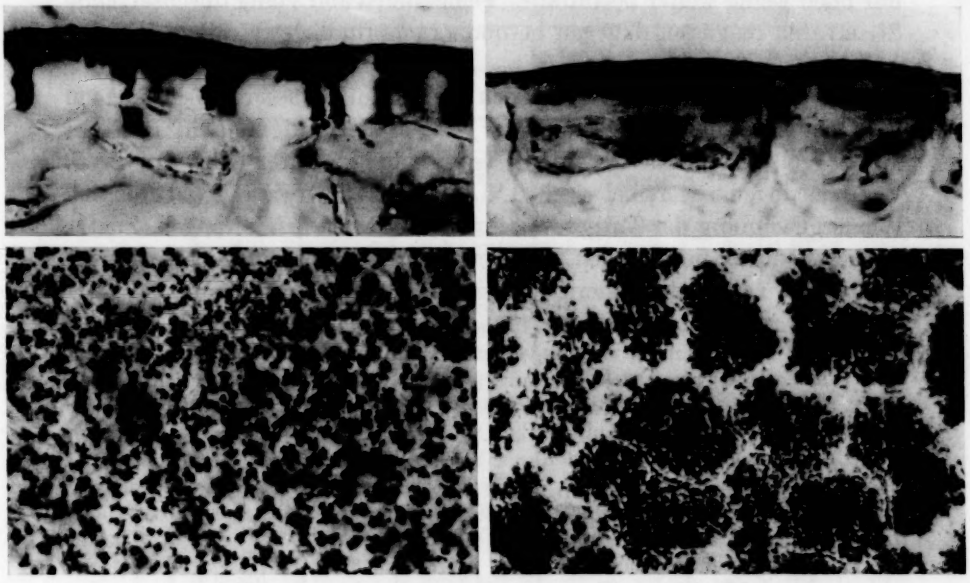
Die Reaktion der Ektodesmen auf einen Wasserverlust ist ebenfalls bei alten Blättern anders als bei jungen. Wir sahen, daß sie dort verkürzt werden. Hier werden hingegen die Stellen, in denen sie als Abbauformen oder formlose Niederschläge auftreten, stark vermehrt, und zwar um so mehr, je stärker die Austrocknung des Blattstückes ist.

Wie stark die Veränderungen an den Ektodesmen alter Blätter sein können, zeigt Versuch 551 (Abb. 13).

Versuch 551 (Auszug aus dem Versuchsprotokoll). Am 12. 11. 56, 18 Uhr (bedeckt, + 9° C, Schauer), wurde ein altes, noch nicht vergilbtes Blatt von *Passiflora coerulea* aus dem Freiland geholt. Ein Stück davon (a) wurde auf destilliertes

Wasser gelegt, ein anderes (b) nach Wägung zum Welken aufgehängt. Beide Blattstücke wurden nach 48 Std fixiert. Das gewelkte Blattstück hatte 65% des Frischgewichtes verloren.

Ergebnis (s. Abb. 13): Während in der Kontrolle meist durchgehende, manchmal auch leicht verkürzte Ektodesmen auftraten (keine Abbauformen), waren im gewelkten Blattstück nur noch ganz kurze Ektodesmenreste unter der Cuticula zu finden. Meist aber zeigte sich starker



a b

Abb. 13. Veränderung der Ektodesmen durch sehr starkes Welken. Querschnitte (oben), etwa 900 ×, und Aufsichtbilder (unten), etwa 400 ×, von Epidermiszellen der Oberseite desselben Blattes von *Passiflora coerulea*. Das Blattstück links (*a*) lag 48 Std auf Wasser, das rechts (*b*) war 48 Std zum Welken aufgehängt (Gewichtsverlust 65 %)

Abbau, oder es traten formlose Niederschläge auf. Die Außenwand färbte sich im gewelkten Blattstück diffus bräunlich an und quoll nicht so stark wie bei a, was wahrscheinlich ebenfalls eine Folge des starken Welkens ist.

Bei den Welkeversuchen, die vorwiegend im Sommer und Herbst 1956 durchgeführt wurden, war besonders auffallend, daß die Ektodesmen während der herbstlichen Schönwetterperiode sehr viel „besser" waren als während des schlechten Wetters im Sommer. Dort waren oft schon bei den Kontrollen auch in relativ jungen Blättern Abbauformen festzustellen, hier fehlten sie völlig und ließen sich auch in recht alten Blättern durch stärkeres Welken nur schwer hervorrufen. Das Erscheinungsbild der Ektodesmen und ihre Reaktion hängt also nicht nur vom absoluten Alter des Blattes, sondern auch von der Jahreszeit

und der von der Großwetterlage beeinflußten Vitalität des Objektes ab. Durch die natürlich nie exakt faßbaren Wirkungen von Umwelt und Alter findet man bei verschiedenen Blättern auch ein und derselben Pflanze oder zu verschiedenen Zeiten keine genaue Übereinstimmung zwischen Welkegrad und Ektodesmenreaktion.

Wenn in Blättern schon von Natur aus nur sehr grobe und kurze Ektodesmen gefunden werden, werden diese auch durch stärkeres Welken nur noch wenig weiter beeinflußt. Feine, die Wand völlig durchsetzende Strukturen reagieren dagegen besonders empfindlich auf einen Wasserverlust.

c) Versuche mit gewelkten, sich wieder mit Wasser aufsättigenden Blättern. Nachdem festgestellt war, daß die Ektodesmen in Blättern durch Welken verändert werden, lag es nahe, zu untersuchen, ob diese Veränderungen reversibel sind, d. h. ob die Außenwandstrukturen bei Wiedergewinnung der Turgescenz ihre alte Form wiedererlangen. Zuerst seien Versuche mit jungen Blättern aufgeführt. Die Beispiele sind typisch für zahlreiche andere, ähnlich verlaufene Experimente.

Versuch 521 (Auszug aus dem Versuchsprotokoll). Am 15. 10. 56, 15^{30} Uhr (bewölkt, $+10^0$ C), wurden vier junge, gerade ausgewachsene Blätter von *Primula veris ssp. macrocalyx* aus dem Freiland geholt und in 2 Teile zerschnitten. Je 1 Stück (a) wurde auf destilliertes Wasser gelegt, das größere Stück (der Rest des Blattes) gewogen und zum Welken aufgehängt. Am 16. 10. 8^{30} Uhr (nach 17 Std) wurde der Wasserverlust durch Wägung festgestellt und dann das Restblatt in 5 Teile zerschnitten (b—f), die ebenso wie A mit der Oberseite auf destilliertes Wasser gelegt wurden. Nach $^1/_2$ Std (9 Uhr) wurde je eins dieser Blattstücke fixiert (b, Turgescenz noch sehr schlecht), zugleich a (Turgescenz sehr gut). Darauf 9^{30} Uhr c (Turgescenz schlecht), 10 Uhr d (Turgescenz gut), 10^{45} Uhr e (Turgescenz sehr gut) und 13^{15} Uhr f (Turgescenz sehr gut). In jedem Präparat wurden 50 „Stellen" bonitiert. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 zusammengefaßt.

Die Verkürzung der Ektodesmen bei jungen Blättern durch das Welken wurde auch in diesem Beispiel wieder sehr deutlich, obwohl im Blattstück b die Wiederaufsättigung mit Wasser schon eine halbe Stunde vor der Fixierung begonnen hatte. Mit der Verbesserung der Turgescenz verlängerten sich auch die Ektodesmen wieder: Die Stellen ohne (0) und die mit kurzen nehmen zugunsten der mit durchgehenden Ektodesmen ab. Nach $1^1/_2$ Std Wasseraufsättigung war das Maximum der Ektodesmenerholung erreicht. Die Turgescenz der Blattstücke war zu diesem Zeitpunkt noch nicht ganz wiederhergestellt. Bei längerem Liegen auf Wasser verkürzen sich die Ektodesmen wieder langsam, wie ja schon vorstehend von einem an und für sich ungünstigen Einfluß des Liegens auf Wasser berichtet worden war. In allen 4 Blättern ist nach $1^1/_2$ Std auf Wasser das Maximum der Ektodesmenerholung erreicht. Häufig werden die Ektodesmen, wie auch S. 681 zeigt, während der Wiederaufsättigung mit Wasser „besser" als sogar in den unbehandelten Kontrollen, vor allem, wenn sie hier schon nicht optimal durchgehend sind.

Nicht aus der Tabelle zu ersehen ist, daß bei den sich erholenden Blattstücken nach $1^1/_2$ Std nicht nur die Länge, sondern auch die Dichte und Feinheit maximal waren. Später verminderte sich die Zahl der Ektodesmen wieder, auch wurden sie etwas gröber.

Aus einer ähnlichen Versuchsserie (Versuch 525 vom 17./18. 10. 56) stammt die Abb. 14. Sie zeigt sehr schön die Folge von Verkürzung,

Tabelle 3. *Versuch 521*

Erholung		Gewichtsverlust %	Turgescenz	Ektodesmen				
				0	kurz	halb	ganz	Abbau
Blatt 1	a Kontrolle		sehr gut	1	—	9	40	—
	b $^1/_2$ Std .	45	mäßig	8	5	7	24	6
	c 1 Std . .		gut	6	1	2	40	1
	d $1^1/_2$ Std .		sehr gut	—	—	6	44	—
	e $2^1/_4$ Std .		sehr gut	3	2	5	40	—
	f $5^1/_4$ Std .		sehr gut	3	1	6	40	—
Blatt 2	a Kontrolle		sehr gut	3	—	33	14	—
	b $^1/_2$ Std .	47	schlecht	1	30	10	9	—
	c 1 Std . .		gut	—	1	20	29	—
	d $1^1/_2$ Std .		sehr gut	—	2	6	42	—
	e $2^1/_4$ Std .		sehr gut	—	1	18	31	—
	f $5^1/_4$ Std .		sehr gut	1	3	29	17	—
Blatt 3	a Kontrolle		sehr gut	—	—	1	49	—
	b $^1/_2$ Std .	51	mäßig	3	1	4	37	5
	c 1 Std . .		sehr gut	—	2	7	41	—
	d $1^1/_2$ Std .		sehr gut	1	—	2	47	—
	e $2^1/_4$ Std .		sehr gut	—	—	5	45	—
	f $5^1/_4$ Std .		sehr gut	—	—	5	45	—
Blatt 4	a Kontrolle		sehr gut	—	1	4	45	—
	b $^1/_2$ Std .	49	sehr schlecht	18	18	4	8	2
	c 1 Std . .		schlecht	4	8	9	29	—
	d $1^1/_2$ Std .		gut	1	3	12	34	—
	e $2^1/_4$ Std .		sehr gut	1	2	24	23	—
	f $5^1/_4$ Std .		sehr gut	3	10	14	23	—

Verlängerung und Wiederverkürzung. Selbst die beim Welken alter Blätter entstehenden „Abbauformen" können sich bei der Wiederaufsättigung mit Wasser in durchgehende Ektodesmen zurückverwandeln. Dafür bietet Versuch 526 ein Beispiel.

Versuch 526 (Auszug aus dem Versuchsprotokoll). Am 17. 10. 56, 14 Uhr (bedeckt, $+17^0$ C) wurde ein älteres Blatt von *Primula veris ssp. macrocalyx* aus dem Freiland geholt, ein Blattstück (a) sofort fixiert, das restliche Blatt gewogen und zum Welken aufgehängt. Am 18. 10., 10 Uhr (nach 20 Std) wurde der Gewichtsverlust festgestellt und das Restblatt in 4 Teile zerschnitten, von denen das eine (b) sofort fixiert wurde und die anderen in eine Petrischale zur Wiederaufsättigung auf destilliertes Wasser gelegt wurden. Davon wurde c um 10^{40} Uhr, d um 11^{50} Uhr und e um 18 Uhr fixiert. Das Ergebnis ist in Tabelle 4 und Abb. 15 dargestellt.

Man sieht, daß die Abbauformen und formlosen Niederschläge, die im gewelkten Blattstück fast 50% ausmachen, schon nach noch nicht 2stündigem Liegen auf Wasser völlig verschwunden waren. Später war wiederum eine Verminderung der Dichte, eine leichte Verkürzung und eine deutliche Vergröberung der Strukturen zu beobachten.

Abb. 14. Veränderung der Ektodesmen durch Welken und Wiederaufsättigung mit Wasser. Versuch 525. Querschnitte durch Epidermiszellen der Oberseite desselben Blattes. *Primula veris ssp. macrocalyx*, etwa 900 ×. Von oben nach unten: *a* Blattstück frisch fixiert; *b* Blattstück 20 Std gewelkt, 47 % Gewichtsverlust; *c* Blattstück 20 Std gewelkt und 1¾ Std auf Wasser gelegen; *d* Blattstück 20 Std gewelkt und 8 Std auf Wasser gelegen

Die Ektodesmen können sich auch nach recht starker Schädigung wieder erholen. Allerdings bilden sich dann auch nach längerem Liegen auf Wasser nur wenig durchgehende Strukturen wieder.

War die Austrocknung zu stark und wird das Blattstück auch nach längerem Liegen auf Wasser nicht wieder turgescent, so bilden sich allmählich immer weniger Quecksilberniederschläge in der Außenwand. Zum Schluß lassen sich nur einige ganz kurze Strukturen unter der Cuticula darstellen. In manchen Fällen werden diese immer größer, und es entstehen monströse, dicke Gebilde, wie sie in Abb. 16 wiedergegeben sind. In solchen Fällen (d. h. nach Abtötung des Plasmas) ist die Wand nur noch relativ wenig quellbar (vgl. S. 691 f.).

Bei jungen, nicht zu stark geschädigten Blättern sind die Ektodesmen dann wieder optimal, wenn die Blattstücke gerade wieder turgescent sind, oft auch schon etwas eher. Die Wiederaufsättigung

mit Wasser ist bei alten Blättern schwieriger und dauert länger. Ebenso geht es mit der Erholung der Ektodesmen. Meist sind sie bei alten

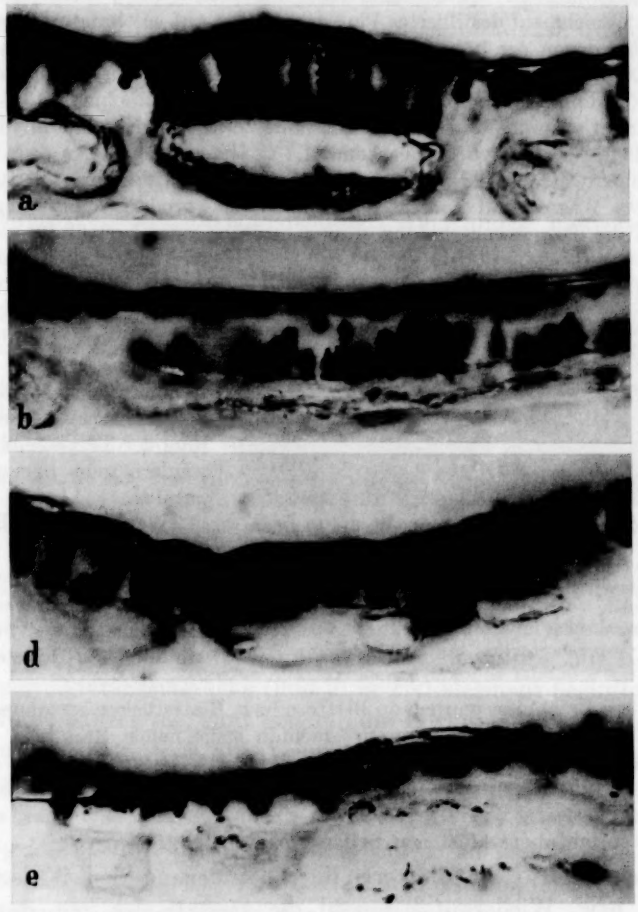


Abb. 15. Veränderung der Ektodesmen durch Welken und Wiederaufsättigung mit Wasser. Versuch 526. Querschnitte durch Epidermiszellen der Blattoberseite desselben Blattes. *Primula veris ssp. macrocalyx*. *a* Kontrolle; *b* gewelkt; *d* gewelkt und 8 Std auf Wasser. Alle Aufnahmen etwa 900 ×

Tabelle 4. *Versuch 526*

Erholung	Gewichtsverlust %	Turgescenz	Ektodesmen					
			0	kurz	halb	ganz	Abbau	formlos
a Kontrolle .		gut	1	16	22	61	—	—
b	47	sehr schlecht	3	28	12	8	34	15
c 40 min . .		mäßig	2	40	13	25	18	2
d 1 Std 50 min		sehr gut	1	2	21	76	—	—
e 8 Std . . .		sehr gut	—	4	34	62	—	—

Blättern auch bei völlig wiederhergestellter Turgescenz nicht wieder so gut wie vor dem Welken.

Die Erholung der Ektodesmen läßt sich beeinflussen, wenn die gewelkten Blattstücke nicht auf destilliertes Wasser, sondern auf bestimmte Lösungen gelegt werden, bei denen der höhere osmotische Druck die Wasseraufnahme erschwert.

Als Lösung mit ausbalanciertem Ionengleichgewicht wurde eine Lösung nach TYRODE (in doppelter Konzentration) verwendet: Natriumchlorid 13,6 g, Kaliumchlorid 0,8 g, Calciumchlorid 0,4 g, Magnesiumchlorid 0,2 g, Natriumdihydrogenphosphat 0,288 g, Natriumhydrogencarbonat 4,4 g, Glucose 2 g, Aqua dest. bis 1000 g.

Ich führte hiermit 20 Versuche durch, bei denen gewelkte Blattstücke auf destilliertes Wasser und zum Vergleich auf die Tyrode-Lösung gelegt wurden. Während die Turgescenzerholung stets schlechter oder bestenfalls genauso gut wie auf Wasser war, erholten sich die Ektodesmen in 16 Fällen auf der Lösung besser als auf dem Wasser. Allerdings waren sie dann oft etwas grob. Die Erholung der Ektodesmen ist also nicht an die Wiederherstellung der Turgescenz gebunden, sondern geht nur mit ihr oft parallel.

Abb. 16. Extrem dicke „Ektodesmen", die in einem Blattstück auftraten, das $14^1/_2$ Std gewelkt war (Gewichtsverlust 52 %) und dann noch 10 Std auf Wasser gelegen hatte, dabei aber nicht wieder turgescent wurde. Versuch 531. Querschnitte durch Epidermiszellen der Blattoberseite. *Primula veris ssp. macrocalyx*; etwa 900 ×

Wenn gewelkte Blattstücke dagegen anstatt auf Wasser auf eine $^1/_{100}$ m KCN-Lösung gelegt werden, verzögert sich sowohl die Aufsättigung mit Wasser wie auch die Regeneration der Ektodesmen.

Alle diese Ergebnisse wurden an Blättern bzw. Blattstücken gewonnen. Experimente mit ganzen intakten Pflanzen brachten keine neuen Resultate. Das noch ungleichmäßigere Welken von alten und jungen Blättern, die sich am Sproß befinden, und die bedeutend längere Welkezeit, während der ältere Blätter unter Umständen sogar zu vergilben beginnen, erschweren diese Versuche, so daß ich das Arbeiten mit abgeschnittenen Blättern bzw. Blattstücken vorzog.

Es gelang also, in Blättern durch Änderung des Wassergehaltes (Welken bzw. Wiederaufsättigung) die Gestalt der mit der Gilsonmethode dargestellten Ektodesmen reversibel zu verändern. Hierbei reagierten junge Blätter anders als alte Blätter. Aus der Art des Wechsels von Verkürzung, Verlängerung und Wiederverkürzung bei jungen Blättern (wobei die Teile der Ektodesmen unter der Cuticula am längsten erhalten bleiben), läßt sich nun folgern, daß die Strukturen bei diesen Vorgängen nicht völlig eingezogen bzw. wieder in die Wand ausgestreckt werden, sondern daß vermutlich nur ihre Darstellungsfähigkeit mit der Gilsonmethode wechselt. Auch die Veränderungen der Dichte sind Folgen der Formveränderungen. Darauf wird später noch eingegangen werden.

Die gefundenen Veränderungen der Ektodesmen könnten auf eine gewisse Beziehung zwischen diesen Strukturen und der Abgabe und der

Aufnahme von Wasser durch die Cuticula hindeuten. HÄRTEL (1956) glaubt zwar nicht an einen unmittelbaren Einfluß der Ektodesmen (und damit des Cytoplasmas) auf die cuticuläre Transpiration, sondern hält Quellungsänderungen in der Cuticularsubstanz (durch direkte Einwirkung verschiedener cH und Ionen verschiedener Kolloidaktivität) für allein entscheidend. Doch ist eine Veränderung der Quellung der Cuticula durch eine aktive Ausscheidung bzw. Resorption von Salzen o. ä. ebenfalls denkbar.

Die Dicke der Cuticula ist bekanntlich nicht allein für die Stärke der cuticulären Transpiration entscheidend. Auch andere Faktoren, z. B. das Blattalter, spielen dabei eine Rolle (KAMP 1930). Auffällig sind die Parallelen zwischen Blattalter, Transpirationswiderstand, Eiweißabbau (MOTHES 1931) und Ektodesmenreaktion. Möglicherweise sind die Zusammenhänge auch so, daß mit zunehmendem Alter die Cuticula poröser wird, wodurch der Transpirationswiderstand sinkt und die Darstellung der Ektodesmen mit der Gilsonmethode dadurch ebenfalls beeinflußt wird. Daß dagegen durch die Außenwandstrukturen das „incipient drying" der Cuticula beeinflußt werden kann, erscheint mir unwahrscheinlich.

2. Versuche mit Giften und Narkotica

Starkes Welken hatte sich nach dem Vorstehenden als ein Faktor erwiesen, der die Darstellung der Ektodesmen beeinflußt. Gelegentliche Versuche hatten nun gezeigt, daß auch eine Behandlung mit KCN die Erholung gewelkter Blattstücke (und ihrer Ektodesmen) beeinflußt. Es war deshalb von Interesse, ganz generell die Wirkung dieses wie anderer Gifte zu prüfen; sind doch alle Versuche über eine experimentelle Beeinflussung der Ektodesmen von Bedeutung für die Grundfrage nach der Natur dieser Strukturen. Tatsächlich wurde bei folgenden Stoffen ein schädigender Einfluß auf die Ektodesmen beobachtet: Blausäure, Äther, Tabakrauch in starken Konzentrationen, Kohlendioxyd in starker Konzentration, Kohlenmonoxyd, Leuchtgas u. a. m.

a) Methodisches. Es kam mir darauf an, die Gifte von allen Seiten her gleichmäßig auf die Objekte einwirken zu lassen. Zur Prüfung einer Giftwirkung auf die Ektodesmen stellte ich daher abgeschnittene, ganze Blätter in Gläschen mit Wasser in ein geschlossenes Glasgefäß (Exsiccator), in das das Gift eingeführt wurde. Vor dem Versuch und während der Vergiftung wurden vorsichtig Blattstücke entnommen und fixiert bzw. vorher noch zur Erholung in eine Petrischale mit der Oberseite auf Leitungswasser gelegt.

Bei dieser Versuchsanordnung konnte eine Kontrollfixierung nur zu Anfang des Versuches vorgenommen werden. Es hatte sich jedoch gezeigt (s. S. 675), daß (als Folge von Tagesrhythmus, Temperatur, Licht, der Isolierung der Blätter usw.) schon bei abgetrennten, jedoch unvergifteten Blättern mitunter recht erhebliche Veränderungen an den Ektodesmen entstehen (vgl. Tabelle 6, S. 687). Deshalb führte ich zu jedem Versuch eine Kontrollserie mit unbehandelten Blättern in einem zweiten, gleichen Gefäß durch. Das hatte den weiteren Vorteil, daß

in jedem einzelnen Versuch mehr Proben entnommen werden konnten (da aus einem normalen Blatt der verwendeten Versuchsobjekte maximal nur etwa 5 Blattstücke geschnitten werden konnten), als wenn die Kontrollen von demselben Blattstück entnommen wurden.

b) Der Einfluß einer Vergiftung auf die Darstellbarkeit der Ektodesmen mit der Quecksilbermethode. Im Verlauf der Versuche zeigte sich, daß oft die Ektodesmen auch durch relativ starke Giftmengen nicht oder nur wenig in ihrem Erscheinungsbild verändert werden. In vielen Fällen (besonders bei Tabakrauch und Äther) mußte deshalb die Giftmenge so groß gewählt werden, daß zugleich das ganze Blatt offensichtlich geschädigt wurde. Bei den Veränderungen der Ektodesmen handelt es sich also in diesen Fällen wahrscheinlich nur um prämortale Erscheinungen. Einige Male (besonders bei Blausäure) gelang aber auch eine reversible Beeinflussung, die natürlich besonderes Interesse erfordert.

Die Stärke der Beeinflussung bzw. Schädigung der Ektodesmen hängt außer von der Giftkonzentration auch von vitalen Faktoren ab. Die Giftresistenz der frisch entnommenen Blätter schwankt auch bei derselben Pflanze und Art sehr. Das zeigt sich in gleicher Weise bei der Stärke des Turgescenzverlustes, der als Indicator für beginnendes Absterben verwendet wurde (in Zweifelsfällen Prüfung durch Plasmolyse). Die Minimaldosis, die nötig ist, um überhaupt einen Einfluß auf die Ektodesmen hervorzurufen, beträgt bei Äther etwa 1 ml/1 Luftraum, bei Blausäure etwa 5 ml einer 0,01 KCN-Lösung/1 Luftraum. Da die Minimaldosis aber z. B. bei HCN mitunter um 1—2 Zehnerpotenzen höher liegt, mußten die von mir verwendeten Konzentrationen meist recht stark angesetzt werden, um eindeutige Effekte zu erzielen. Die Giftmengen zur deutlich sichtbaren Beeinflussung der Ektodesmen sind also wesentlich größer als die, die z. B. SCHMUCKER (1928) zur Beeinflussung der Transpiration, SCHUMACHER (1953) zur Erhöhung der Lebensdauer ephemerer Blüten und WILLENBRINK (1957) zur reversiblen Hemmung des Stofftransportes in Siebröhren verwendeten. Auch bei der Anwendung von Tabakrauch als „Gift" muß die Konzentration sehr hoch sein. Zigarettenrauch, wie er normalerweise in einem Zimmer vorhanden sein kann, führt sicher zu keiner unmittelbar erkennbaren Schädigung der Ektodesmen.

Wie im folgenden noch genauer ausgeführt werden wird, ist die Veränderung der Ektodesmen als Folge einer Vergiftung nicht so sehr durch die Natur des Giftes bedingt, d. h. das Gift wirkt nicht direkt auf die Ektodesmen ein, sondern trifft das ganze Blatt, je nach dessen spezifischer Konstitution. Die Ektodesmen ihrerseits aber sind in ihrer eigentümlichen Ausprägung Indicatoren für den jeweiligen Gesamtzustand des Blattes, der natürlich durch die verschiedensten Gifte in ähnlicher Weise beeinträchtigt werden kann. Es erscheint mir daher

vorteilhaft, im folgenden nicht die Gifte und ihre Wirkungen einzeln zu behandeln, sondern von der Reaktion der Ektodesmen auf die Vergiftung des Blattes auszugehen.

Zunächst sei ein Versuch beschrieben, bei dem sich die Ektodesmen auf eine Vergiftung mit einer starken Dosis Tabakrauch hin ähnlich wie bei den Versuchen mit jungen, welkenden Blättern verkürzten.

Versuch 801 (Auszug aus dem Versuchsprotokoll). Am 8. 4. 57, 14^{45} Uhr wurden 4 Blätter von *Primula denticulata* und 6 Blätter von *Primula veris ssp. macrocalyx* aus dem Freiland (+ 10° C) geholt und aus jedem Blatt ein Blattstück (a) sofort fixiert. Die Restblätter wurden in 2 Exsiccatoren von je 2 Liter Inhalt gestellt (Gewächshaus, + 18° C), und zwar in jeden 2 Blätter von *P. dent.* und 3 von *P. v. m.* Durch den einen wurde der Rauch von 2 Zigaretten gesogen. Nach 4 Std wurde je ein weiteres Blattstück (b) fixiert, nach weiteren 15 Std der Rest (c).

Tabelle 5. *Versuch 801 (Primula veris ssp. macrocalyx)*

		Zahl der Bonitierungen	Ektodesmen				
			0	kurz	halb	ganz	Abbau
Blatt 1 (Luft)	a Kontrolle. .	50	5	—	1	43	1
	b nach 4 Std .	50	—	2	5	43	—
	c nach 19 Std	50	1	5	5	39	—
Blatt 2 (Rauch)	a Kontrolle. .	100	10	10	16	64	—
	b nach 4 Std .	100	16	45	25	5	9
	c nach 19 Std	100	26	74	—	—	—

Die mit Tabakrauch behandelten Blätter zeigten unter anderem auch Schädigungen ihrer Turgescenz. Es handelt sich also in diesem Falle wohl um prämortale Veränderungen, die durch den Zustand der Ektodesmen angezeigt werden. Während sich die Ektodesmen der Kontrollblätter nur sehr wenig veränderten, waren sie 4 Std nach der Rauchbehandlung sehr viel kürzer, zum Teil auch gröber und ihre Zahl geringer. Nach 19 Std Vergiftung traten höchstens nur noch sehr kurze Formen auf, mitunter auch sehr dicke Gebilde, kaum als „Ektodesmen" anzusprechen, ähnlich wie bei mißlungener Erholung zu stark gewelkter alter Blätter (s. S. 680). Als Folge der Giftwirkung des Rauches verringerte sich auch die Stärke der Wandquellung deutlich. Zur Demonstration der Veränderungen sei in Tabelle 5 die Verkürzung der Ektodesmen an einem Blatt von *P. veris ssp. macrocalyx* mit der in einem entsprechenden Kontrollblatt verglichen. Abb. 17 zeigt die starken Veränderungen bei *P. denticulata*.

Eine Reihe von weiteren Versuchen ließ erkennen, daß allerdings die Ektodesmen nach einer Vergiftung mit Tabakrauch meist zunächst nicht kürzer, sondern gröber werden, ohne dabei wesentlich an Länge abzunehmen. Die vorher einzeln oder paarweise auftretenden Ektodesmen

bilden dabei häufig Büschel. Auch andere Gifte wirken ähnlich. Das geht unter anderem aus folgender Versuchsgruppe hervor:

Versuch 836 (Auszug aus dem Versuchsprotokoll). Am 27. 4. 57, 16^{30} Uhr wurden 12 Blätter von *Primula veris ssp. macrocalyx* aus dem Freiland (+ 21° C) geholt, je ein Blattstück (a) fixiert und die Restblätter zu je 3 in 4 Exsiccatoren gestellt. Bei Blatt 1—3 wurde der Rauch einer halben Zigarette eingeblasen (Exsiccator mit 3 Liter Luftraum), Blatt 4—6 wurde mit 1 ml Äthyläther behandelt (2 Liter Luftraum), Blatt 7—9 mit 20 ml einer 0,155 m KCN-Lösung (2 Liter Luftraum) und Blatt 10—12 blieben als Kontrollen ohne Gift (2 Liter Luftraum). Nach $1^1/_2$ Std wurde ein weiteres Blattstück (b) fixiert, ein anderes (d) wurde zur Erholung auf Wasser gelegt. Dieses Blattstück sowie der Rest des Blattes, der im Exsiccator verblieb (c), wurde am 28. 4., 18 Uhr nach $25^1/_2$ Std Vergiftung bzw. $1^1/_2$ Std Vergiftung und 24 Std Erholung fixiert. Versuchsdurchführung im Versuchsgewächshaus. Temperatur: + 16 bis + 20° C.

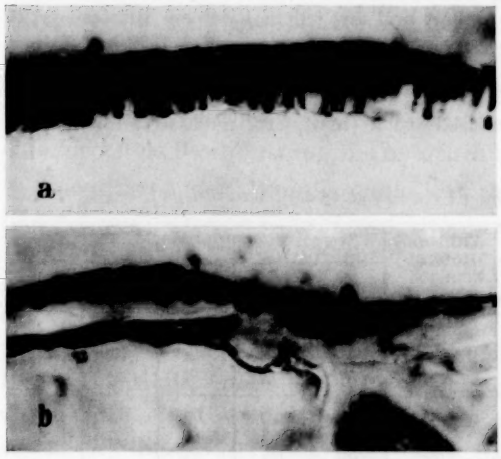


Abb. 17. Veränderung der Ektodesmen durch Vergiftung mit Tabakrauch. Versuch 801. *Primula denticulata*. *a* vor, *b* nach 4 Std Vergiftung. Querschnitte durch Epidermiszellen der Blattoberseite; etwa 900 ×

Ergebnis: In Tabelle 6 ist die durchschnittliche Zahl der Ektodesmen auf 400 μ^2 Fläche bei den einzelnen Blattstücken aufgeführt. Hierzu wurden jeweils 20 Quadrate von 400 μ^2 ausgezählt (abgezogene obere Epidermis, Aufsicht). Stellen ohne Ektodesmen oder solche mit auffallend schlechten Formen wurden dabei nicht berücksichtigt. Gleichzeitig wurde an Querschnitten die Veränderung der Lage geprüft und gefunden, daß sie in keinem Fall sehr erheblich war. Aus der Tabelle ist zu sehen, daß die Zahl der Ektodesmen auch ohne Giftbehandlung nach 24 Std bedeutend geringer war als zu Beginn des Versuches, eine Folge der gesamten durch die Versuchsanstellung bedingten ungünstig wirkenden Umwelteinflüsse. Zugleich wurden die Strukturen etwas kürzer und schwächer gefärbt. Ihre Feinheit blieb unverändert. Nicht viel anders waren die Veränderungen nach der Vergiftung mit Äther, ein Zeichen, daß die verwendete Menge zu gering war, um die Strukturen zu beeinflussen.

Dagegen vergröberte die Behandlung mit Tabakrauch die Ektodesmen schon nach $1^1/_2$ Std, gleichzeitig nahm die Zahl ab. Die Färbung wurde kräftiger. Nach $25^1/_2$ Std Vergiftung mit Tabakrauch veränderten sich die Strukturen nicht wesentlich gegenüber $1^1/_2$ Std Vergiftung. In

Tabelle 6. *Versuch 836. Durchschnittliche Zahl der Ektodesmen auf 400 μ^2 Fläche*

Vergiftung	Erholung	Tabakrauch			Äther		
		Blatt 1	Blatt 2	Blatt 3	Blatt 4	Blatt 5	Blatt 6
a Kontrolle		41,1	40,5	31,1	39,3	46,2	43,8
b $1^1/_2$ Std	—	17,6	19,2	18,2	45,8	39,4	36,9
c $25^1/_2$ Std	—	21,7	21,5	20,1	33,8	33,9	33,1
d $1^1/_2$ Std	24 Std	17,1	21,7	18,9	33,4	34,2	33,3

Vergiftung	Erholung	Blausäure			Ohne Gift		
		Blatt 7	Blatt 8	Blatt 9	Blatt 10	Blatt 11	Blatt 12
a Kontrolle		40,3	32,4	41,3	45,2	41,0	33,3
b $1^1/_2$ Std	—	13,8	23,0	23,7	54,5	38,6	31,6
c $25^1/_2$ Std	—	22,2	5,0	5,2	29,5	24,9	33,6
d $1^1/_2$ Std	24 Std	37,6	33,4	38,0	29,6	26,5	33,2

allen Fällen zeigten die Blätter noch keine Absterbeerscheinungen und keinen Turgescenzverlust. Die Schädigung der Ektodesmen war jedoch schon nach $1^1/_2$ Std Vergiftung so stark, daß sie sich auch dann nicht wieder erholten, wenn die Blattstücke danach 24 Std auf Wasser lagen.

Bei Blatt 7—9 (HCN) ist nach $1^1/_2$ Std Vergiftung ebenfalls eine starke Vergröberung festzustellen. Die Blattstücke zeigten zu dieser Zeit noch keine äußerlich sichtbaren Schädigungen. Auch die Ektodesmen waren (im Gegensatz zur Vergiftung mit Tabakrauch) nur reversibel beeinflußt, denn sie wurden nach anschließender 24stündiger Erholung auf Wasser wieder feiner, ihre Zahl nahm wieder zu, und gleichzeitig setzten verstärkt die Veränderungen ein, die an den Blättern ohne Vergiftung beobachtet wurden, besonders der Rückgang der Farbintensität. Nach $25^1/_2$ Std Vergiftung war an der starken Schädigung der Turgescenz das beginnende Absterben der Blattstücke schon äußerlich erkennbar. Hier waren die Ektodesmen bis auf wenige, sehr grobe Gebilde verschwunden. In den Blattstücken 8c und 9c traten extrem grobe Gebilde ähnlich Abb. 16 (S. 682) auf. Diese waren besonders häufig in Schließzellen zu finden, normale Epidermiszellen waren meist frei von Quecksilberniederschlägen.

Abb. 18 aus einem ähnlichen Versuch (Versuch 936) zeigt die beschriebenen Veränderungen im Bilde. Es sieht geradezu so aus, als wären die Strukturen, die im unvergifteten Blattstück mehr oder weniger einzeln auftreten, durch die Vergiftung „zusammengelaufen" und hätten büschelige Aggregationen gebildet. Sie sind grober und kräftiger gefärbt als vor der Vergiftung, ihre Länge ist nicht wesentlich verringert, ihre Zahl hat aber stark abgenommen. Nach der Erholung sind sie sehr viel zarter, die Büschelform tritt wieder zurück, und die Zahl der Strukturen ist wieder vermehrt.

Nicht selten vergröbern oder verkürzen sich die Ektodesmen nach einer Vergiftung nicht, sondern zerfallen in viele kleine Einzelstückchen,

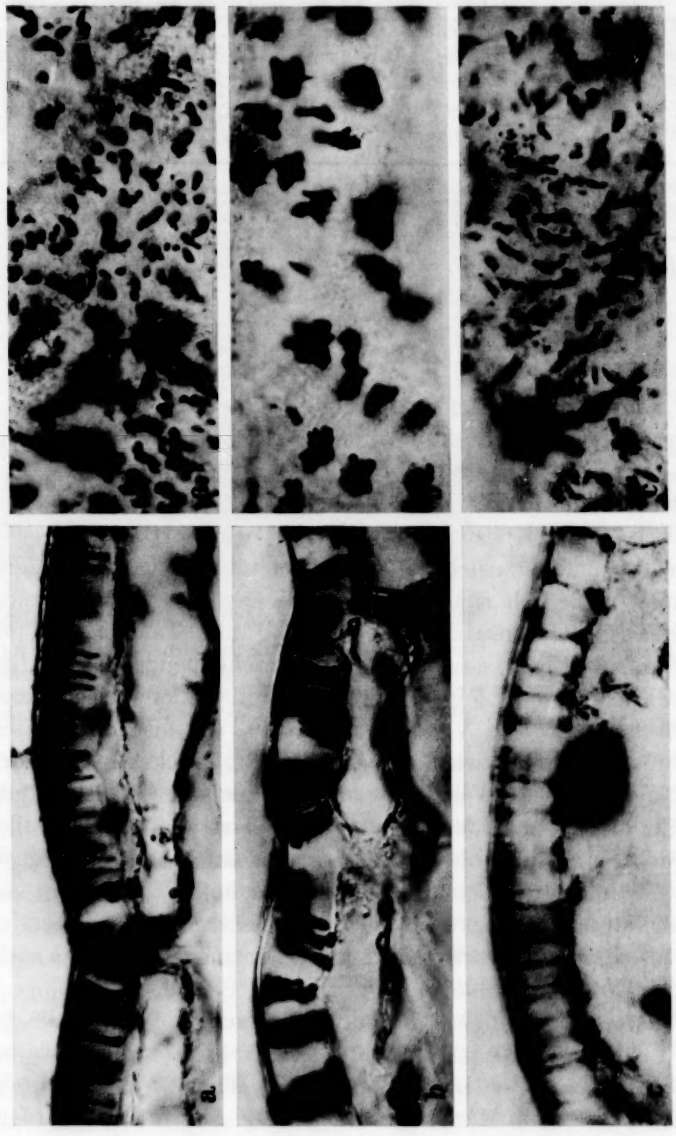


Abb. 18. Reversible Veränderung der Ektodesmen durch Einwirken von HCN. *a* Vor dem Versuch, Kontrolle; *b* nach 14½ Std Einwirkung von 10 ml 0,1 m KCN/2 Liter-Exsiccator; *c* nach Vergiftung wie bei *b* und 33½ Std Erholung an der Luft. Querschnitte (links) durch bzw. Aufsichtbilder (rechts) von Epidermiszellen der Oberseite desselben Blattes von *Corbusa matthioli* (Primulaceae); etwa 900×. Versuch 936. Versuchsdurchführung in einer Klimakammer (+13° C, dunkel) am 1./2. 6. 57

die ziemlich schnell völlig aus der Wand verschwinden oder tropfig zusammenlaufen. Besonders häufig geschieht dieses nach einer Vergiftung mit Äther oder Kohlenmonoxyd mit tödlicher Wirkung. Das zeigt z. B. Versuch 851.

Versuch 851 (3. 5. 57). Ein Blatt von *Primula veris ssp. macrocalyx* wurde als Kontrolle vor dem Versuch (a), nach $1^1/_2$ Std Vergiftung mit 4 ml Äther 2 Liter Exsiccator (b) sowie nach $1^1/_2$ Std Vergiftung und $4^3/_4$ Std „Erholung" an der Luft (c) fixiert. Abb. 19 zeigt die Veränderung der Ektodesmen. Durch die Ätherbehandlung war das Blatt jedoch offensichtlich abgetötet, es hatte seine Turgescenz verloren, die Intercellularen waren infiltriert.

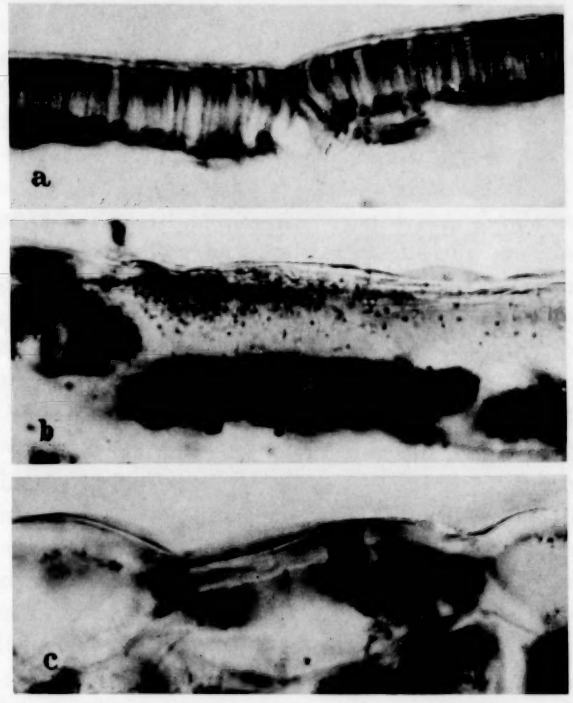


Abb. 19. Irreversible Veränderung der Ektodesmen durch tödliche Vergiftung mit Äther. *a* Kontrolle vor dem Versuch; *b* nach $1^1/_2$ Std Vergiftung mit 4 ml Äther/2 Liter-Exsiccator; *c* nach Vergiftung wie *b* und anschließend $4^3/_4$ Std „Erholung" an der Luft. Blatt durch die Behandlung abgestorben. Querschnitte durch Epidermiszellen der Blattoberseite von *Primula veris ssp. macrocalyx*, etwa 900 ×. Versuch 851

Man sieht auf den Abbildungen den Zerfall des Plasmas wie der Ektodesmen, ferner wiederum die vereinzelten, monströsen Gebilde in den nur noch wenig gequollenen Wänden völlig abgestorbener Blätter. Diese schon wiederholt angeführte Veränderung der Wandquellung bei schweren Schäden erscheint mir besonders bemerkenswert und soll später noch gesondert geschildert werden (vgl. S. 691f.).

In anderen Fällen, besonders bei geringen Äthermengen, ist kein Zerfall, sondern eine Verkürzung und Vergröberung der Ektodesmen ähnlich wie nach einer Vergiftung mit Blausäure usw. festzustellen. Eine deutlich reversible Beeinflussung der Strukturen wie bei den Versuchen mit HCN gelang mir bei den Äthervergiftungen nicht, da eine

Reaktion der Ektodesmen erst bei irreversibler Schädigung des Blattes eintrat.

Zwischen Vergröberung und Zerfall liegt die prämortale Reaktion der Ektodesmen bei Versuch 861 auf eine tödliche Vergiftung mit einer starken Dosis Kohlendioxyd.

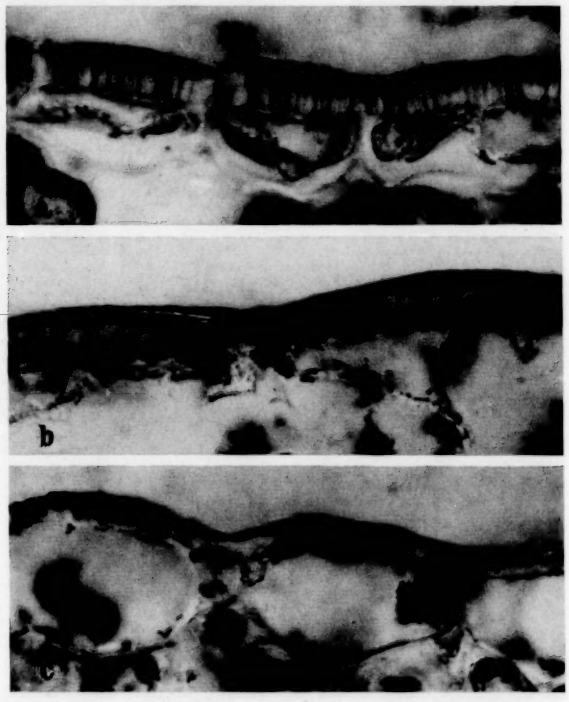


Abb. 20. Irreversible Veränderung der Ektodesmen durch Vergiftung mit einer starken Dosis CO_2. *a* Kontrolle, vor dem Versuch; *b* nach 9 Std Vergiftung mit CO_2; *c* nach 23 Std Vergiftung mit CO_2, Blattstück abgetötet. Querschnitte durch Epidermiszellen desselben Blattes, *Primula veris ssp. macrocalyx*, etwa 900 ×. Versuch 861

Versuch 861 (Auszug aus dem Versuchsprotokoll). Am 9. 5. 57, 9^{30} Uhr wurden 3 Blätter von *Primula veris ssp. macrocalyx* aus dem Freiland (+ 7° C) geholt. Je ein Blattstück (a) wurde fixiert und die Restblätter bei 18—20° C in einen Exsiccator unter einen Dunkelsturz gestellt. Das Gefäß wurde durch Einlegen einer reichlichen Menge CO_2-Schnee mit Kohlendioxyd gefüllt. Nach 9 Std (18^{30} Uhr) wurde ein weiteres Blattstück (b) und nach 23 Std (8^{30} Uhr) der Rest (c) fixiert. Schon bei b war eine leichte Schädigung der Turgescenz zu bemerken. Bei c waren die Blattstücke offensichtlich abgetötet. Der CO_2-Schnee führte nur zu einer schwachen Temperatursenkung, so daß die Veränderungen an den Ektodesmen nicht dadurch entstanden sein können.

Ergebnis (s. Abb. 20). Während vor der Vergiftung (a) feine durchgehende Ektodesmen vorherrschten, waren diese nach 9 Std Vergiftung (b) völlig verschwunden. Es dominierten grobe Zerfallsformen und sehr

kurze Ektodesmen. Nach 23 Std Vergiftung (c) waren die Ektodesmen bis auf wenige Reste in der kaum gequollenen Außenwand (vgl. S. 692f.) verschwunden.

Die beiden zuletzt beschriebenen Fälle (Zerfall der Ektodesmen als Folge einer Vergiftung) sind aber Ausnahmen und vielleicht auf die besonders starke Vergiftung zurückzuführen. In der Regel vergröbert eine Vergiftung die Strukturen. Hiermit verbunden ist manchmal eine Verkürzung und stets eine Abnahme der Zahl, d. h. es entstehen Ektodesmenbüschel. Ähnliche Effekte treten auch dann auf, wenn die Versuchsblätter ursprünglich bereits „Abbauformen" besitzen, der Abbau wird dann meist verstärkt. Wird eine Vergiftung nicht oder zu spät unterbrochen, so stirbt das Blatt ab. Dann sitzen nur noch vereinzelte, dicke, monströse Gebilde in der meist nur wenig gequollenen Außenwand, oder diese ist völlig frei von Quecksilberniederschlägen. Wenn die Vergiftung rechtzeitig unterbrochen wird, so daß eine Erholung möglich ist, werden die Strukturen wieder feiner. Sie nehmen dabei unter Umständen wieder an Zahl zu und verhalten sich dann ähnlich wie in den nicht vergifteten Kontrollblättern, in denen sie mit der Versuchsdauer auch meist feiner, schwächer gefärbt und kürzer werden.

Wie die Ektodesmen auf eine Vergiftung hin reagieren, läßt sich nie genau voraussagen. Junge Blätter mit nicht optimal dichten und langen Ektodesmen scheinen vorwiegend mit einer leichten Vergröberung und einer starken Verkürzung zu reagieren, etwas ältere Blätter (mit sehr dichten und durchgehenden Ektodesmen) meist mit der Bildung von Büschelformen, Vergröberungen, Abnahme der Zahl und leichter Verkürzung, alte Blätter meist mit Verstärkung des „Abbaus" und Zerfall.

Es sei schon hier erwähnt, daß auch Wuchsstofflösungen, Lösungen von Insecticiden, Aminosäuren + Ascorbinsäure sowie Ascorbinsäure + Metaphosphorsäure in überstarken Dosierungen oder bei zu langer Einwirkung eine ähnliche toxische Wirkung (besonders Vergröberung und Verkürzung) haben.

c) Der Einfluß der Vergiftungen auf die Wandquellung. In den meisten Fällen wird durch die Vergiftung nicht nur das Cytoplasma und die Ektodesmen geschädigt, sondern auch irgendwie die Struktur der Zellwände beeinflußt. Die Vergiftung beeinträchtigt die Semipermeabilität des Protoplasmas. Die Intercellularen werden infiltriert. Die Turgescenz schwindet. Als Folge davon wird das vorher steife Blatt weich und schlaff. Diese Konsistenzänderung ist makroskopisch sehr deutlich auch noch nach der Fixierung mit der Gilsonlösung wahrzunehmen. Fixierte, jedoch unvergiftete Blätter haben natürlich auch Semipermeabilität und Turgor verloren und sind schlaffer als vor der Fixierung. Fixierte, jedoch vorher vergiftete Objekte sind aber im Vergleich dazu viel weicher und schlaffer, müssen also eine Veränderung auch in der Wandsubstanz erfahren haben.

Wie schon mehrmals beim Beschreiben der Versuchsergebnisse (nicht nur bei den Vergiftungsversuchen, sondern auch bei den Welkeversuchen) erwähnt wurde, vermindert sich die Wandquellung mit der Stärke der Schädigung, auch wenn die Blätter bei Versuchsende noch nicht abgestorben waren, besonders aber durch ihr Absterben. In einigen Fällen wurde durch Messungen der Wanddicke der subjektive Gesamteindruck quantitativ gestützt. Hierzu wurde die Dicke der Außenwände über der Zellmitte bestimmt.

Tabelle 7. *Veränderung der Außenwanddicke bei Vergiftung mit CO_2 . Versuch 861*

Blattstück	Wanddicke
a Kontrolle, vor der Vergiftung . . .	7,0 μ
b nach 9 Std CO_2 .	4,9 μ
c nach 23 Std CO_2	3,3 μ

Es sei zunächst der Durchschnitt von je 20 Messungen bei Versuch 861 (S. 690f.) angeführt (Tabelle 7).

Die Wandquellung nimmt sogar bereits ab, wenn die Blattstücke längere Zeit auf Wasser liegen bzw. abgeschnittene Blätter in Gläschen mit Wasser an der Luft stehen. Tabelle 8 (Versuch 836, s. unten) zeigt den Durchschnitt von jeweils 60 Messungen (20 Messungen an je drei Blättern).

Besonders bei c sieht man die Abnahme der Wandquellung sehr deutlich. Sie war bei den vergifteten Blattstücken jedoch stets größer als bei der Luftkontrolle. Das Liegen auf Wasser wirkte offensichtlich bei der Luftkontrolle nur sehr wenig vermindernd, stark dagegen nach

Tabelle 8. *Versuch 836*

Veränderung der Wanddicke (μ)					
Blatt 10—12 (Luft)	a 8,3 μ	Blatt 1—3 (Rauch)	a 7,6 μ	Blatt 7—9 (HCN)	a 8,8 μ
	b 7,3 μ		b 6,6 μ		b 7,9 μ
	c 6,2 μ		c 5,2 μ		c 5,5 μ
	d 7,5 μ		d 5,9 μ		d 5,9 μ

a Vor dem Versuch, Kontrolle; b nach $1^1/_2$ Std in Luft bzw. Gift; c nach $25^1/_2$ Std in Luft bzw. Gift; d nach $1^1/_2$ Std in Luft bzw. Gift und 24 Std auf Wasser.

vorausgegangener $1^1/_2$ Std Vergiftung. Der Einfluß von $25^1/_2$ Std Vergiftung war demgegenüber noch stärker.

In diesem Versuch zeigte sich also eine auffällige Parallele zwischen der „Verschlechterung" der Ektodesmen und der Abnahme der Wandquellung. Man könnte an einen direkten Zusammenhang denken, doch sprechen Versuche von anderer Seite dagegen.

Viel wahrscheinlicher ist, daß die Beeinflussung der Wandquellung durch eine Vergiftung eine indirekte Wirkung ist. Die gleichen Erscheinungen treten auch dann auf, wenn das Blatt durch andere Faktoren, z. B. durch zu starkes Welken (vgl. Abb. 16, S. 682), Erhitzen, Erfrieren usw. abgetötet wurde. Die Wirkung geht hierbei wahrscheinlich

von dem geschädigten Plasma bzw. den Ektodesmen aus, indem möglicherweise Stoffe, die nach dem Verlust der Semipermeabilität des Plasmas in die Wand übertreten (vgl. WEISS 1957), wirksam werden. Wieweit diese Quellungsänderungen der Wand auf die Darstellung der Ektodesmen stärkeren Einfluß haben, ist im einzelnen schwer abzusehen.

d) Der Einfluß der Vergiftung auf die anderen Darstellungsverfahren. Die Vergröberung der Ektodesmen durch eine Vergiftung ist keine Folge einer etwa erhöhten Permeabilität für einen der üblichen Zusätze zur Gilsonlösung und damit einer Konkurrenzfixierung. Die gleichen Effekte lassen sich sogar, wenn auch etwas abgeschwächt, mit einer Fixierung in reiner Sublimatlösung nachweisen, wie Versuche mit *Primula veris* nach Vergiftung mit Äther ergaben. Es wird also direkt die Niederschlagsbildung des Quecksilbers an der Ektodesmenstruktur beeinflußt.

Mit der Silbermethode prüfte ich, ob die vorstehend beschriebenen Veränderungen an den Ektodesmen nur durch eine Fixierung mit der Sublimatmethode erfaßt werden können, also spezifische Veränderungen in der Darstellungsfähigkeit mit dieser Methode sind, oder ob auch bei der Anwendung der Silbermethode die gleichen Veränderungen auftreten.

Unter anderem wurden Blätter von *Primula veris ssp. macrocalyx*, *Bergenia crassifolia*, *Taraxacum officinale* mit 10 ml einer 1 m KCN-Lösung/l Luftraum (5 Tage) abgetötet (völliger Turgescenzverlust und Infiltration der Intercellularen). Die Darstellung der Ektodesmen mit Silber wurde trotzdem kaum beeinflußt, während in einigen Parallelversuchen mit der Gilsonmethode die beschriebenen Veränderungen beobachtet werden konnten. Manchmal war allerdings nach einer Vergiftung die Zahl der Ektodesmen bei der Silbermethode geringer und sie selbst stärker tropfig zerfallen als bei den unbehandelten Kontrollen. Es traten ferner mehr Artefakte auf (fädig-bäumchenförmige Strukturen in den Antiklinen). Meist waren jedoch die behandelten Objekte den unbehandelten Kontrollen gegenüber völlig unverändert. Besonders eine Vergröberung der Strukturen konnte ich niemals feststellen. Die Darstellung der Ektodesmen mit Silber reagiert also nicht wie die mit Quecksilber auf eine Vergiftung. Es gelingt demnach nur mit der Gilsonmethode, die durch diese Faktoren in oder an den Ektodesmen hervorgerufenen Veränderungen sichtbar zu machen, ebenso wie auch die tagesperiodischen, die Abbau- usw. Erscheinungen nur mit der Gilsonmethode sichtbar werden.

3. Versuche mit Stickstoff- und Sauerstoffatmosphäre

Wie aus dem letzten Abschnitt hervorgeht, konnten unter anderem mit Giften, die, wie Blausäure und Kohlenmonoxyd, einen Einfluß auf die Atmung und damit auf das Redox-System der Zelle haben,

Veränderungen an den Ektodesmen hervorgerufen werden (wenn auch nur bei relativ starken Konzentrationen). Es lag nun nahe, zu untersuchen, ob und wie weit die Strukturen auf eine reine N_2- bzw. O_2-Atmosphäre reagieren. Wahrscheinlich sind ja Reduktionsvorgänge bei der Darstellung mit Quecksilber beteiligt.

Hierzu stellte ich ganze Blätter ein bis mehrere Tage in Exsiccatoren mit reinem O_2 bzw. N_2 und hielt sie dunkel. In jeweils über 20 Versuchen konnte ich mit der Gilsonmethode jedoch keine sicheren Unterschiede zu den Luftkontrollen finden. Man wird daraus schließen müssen, daß die Redox-Vorgänge der Atmung nicht unmittelbar mit den Faktoren identisch sind, die die wechselnde Reduktionsfähigkeit der Ektodesmen mit Quecksilber beherrschen.

4. Versuche mit gelösten Stoffen, die auf die Blattoberfläche aufgetragen wurden

SCHUMACHER u. LAMBERTZ (1956) konnten durch Auftragen von Lösungstropfen auf Blattoberflächen die Zahl der darunter befindlichen Ektodesmen in einem gewissen Umfang vermehren und vermindern. Sie konnten jedoch die Frage noch nicht klären, ob diese Veränderungen durch einen Wechsel in der Darstellungsfähigkeit (Veränderungen in den in der Wand bleibenden Strukturen) oder durch ein Ausstrecken bzw. Einziehen der plasmatischen Struktur entstehen. Auch die Frage, ob und wie weit diese Änderungen mit der Stoffaufnahme durch die Blattoberfläche zusammenhängen, war unklar geblieben. Ich habe daher auch diese Fragen weiterverfolgt.

a) Methodik. Die Blätter bzw. Blattstücke wurden auf verschiedene Weise „gefüttert": Ich brachte wäßrige Lösungen des Stoffes bzw. Stoffgemisches in einem Wattebausch (Wattebauschmethode) oder in einem großen Tropfen direkt auf die Blattoberfläche. Eine Umrandung mit Vaseline verhinderte nötigenfalls ein Herunterlaufen der Flüssigkeit. Häufig wurde die Verdunstung der Lösung durch Überstülpen einer Petrischale herabgesetzt. Als Kontrollen dienten Partien desselben Blattes, meist entsprechende Stellen der anderen Blatthälfte, die ohne Behandlung blieben (Luftkontrollen, s. auch SCHUMACHER u. LAMBERTZ 1956).

Oder ich legte Blattstücke nach Abdichtung der Wundränder mit Vaseline in Petrischalen mit der Oberseite auf die Versuchslösung bzw. als Kontrollen auf destilliertes Wasser (Blattstückmethode). Die gefütterten Partien bzw. Blattstücke wurden gleichzeitig mit den Kontrollen am Ende der „Fütterung" fixiert.

Eine Reihe von Versuchen führte ich in einer Klimakammer durch. Sie besaß 1957 folgende Lampenbestückung: 10 Osram HNT 202 40 W, 14 Osram HNI 202 40 W, und 4 Osram HNI de Luxe 202 40 W Leuchtstoffröhren. 1958 waren vorhanden: 9 Osram HNT 202 40 W, 9 Osram HNI de Luxe 202 40 W und 9 Osram HNW de Luxe 202 40 W Leuchtstoffröhren. Die Gesamtlichtstärke im Abstand der bestrahlten Blätter war in den einzelnen Versuchen etwas verschieden, sie betrug meist etwa 7000—11000 Lux.

Es wurden immer nur einheitlich aussehende Blätter als Versuchsmaterial verwendet. Trotzdem zeigten sich oft, auch bei den schon von SCHUMACHER u.

LAMBERTZ (1956) verwendeten Objekten, beträchtliche Unterschiede bei den Ektodesmen innerhalb eines Blattes und sogar innerhalb recht eng begrenzter Stellen eines Blattstückes. Sie waren nicht selten größer als die meist relativ geringen durch die Fütterung verursachten Veränderungen.

Die Fütterungsversuche waren deshalb sehr schwierig zu beurteilen, wenn nicht gerade toxische Effekte eintraten, und hätten für eine einigermaßen sichere statistische Auswertung ein sehr großes Versuchsmaterial erfordert. Ich habe daher davon abgesehen, die Zahl der Ektodesmen an ganzen Schnitten (SCHUMACHER u. LAMBERTZ 1956) oder die Form der Strukturen wie bei den Welkeversuchen statistisch zu erfassen. Mit diesen Methoden können immer nur einzelne Veränderungen dargestellt werden, während die Wirkung einer Fütterung sehr komplex sein kann. Daher berücksichtigte ich vor allem den Gesamteindruck der Präparate. Nach intensiver Durchsicht und häufigem Wechsel zwischen den zu vergleichenden Proben kommt man — genügende Vertrautheit mit dem Objekt vorausgesetzt — so zu der wohl zuverlässigsten Erfassung der Unterschiede.

Da mannigfache Veränderungen infolge einer Fütterung eintreten können, notierte ich bei der Übersichtsdarstellung der Ergebnisse jeweils nur den Grad einer „Verbesserung" oder „Verschlechterung" der Ektodesmen. Durchgehende, sehr dichte, sehr feine und sehr klar dargestellte Ektodesmen galten als optimal. Verkürzung, Verminderung der Zahl, Vergröberung und ein Undeutlichwerden der Strukturen wurden als „Verschlechterung", die umgekehrten Vorgänge als „Verbesserung" bezeichnet.

b) Gemische aus Aminosäuren und Ascorbinsäure. Im Sommer und Herbst 1956 sowie im Frühjahr 1957 prüfte ich — vorwiegend in Freilandversuchen mit Primeln und Passifloren — in insgesamt etwa 180 Einzelfütterungen verschiedene Stoffe bzw. Stoffgemische. Nur selten konnte ich die von SCHUMACHER u. LAMBERTZ (1956) angegebenen Veränderungen an den Ektodesmen reproduzieren. Meist fand ich gegenüber den Kontrollen keinen Unterschied; mitunter schien sogar das Gegenteil vorzukommen. Dies war sicher aber vorwiegend eine Folge von ungleichmäßigem Versuchsmaterial.

Da die Versuche also durchaus nicht immer die erwarteten Ergebnisse hatten (s. auch die von SCHUMACHER u. LAMBERTZ bereits erwähnten Schwierigkeiten), führte ich zunächst intensivere Untersuchungen unter exakteren Bedingungen mit dem Stoffgemisch durch, das die bei mir relativ besten Resultate erbracht hatte und (bis auf die 10fach erhöhte Ascorbinsäurekonzentration) dem von SCHUMACHER u. LAMBERTZ 1956, S. 49, angegebenen Gemisch entspricht: 0,1 g Glucose, 0,1 g Ammoniumnitrat, 0,01 g Glykokoll, 0,01 g Glutaminsäure, 0,01 g Glucosamin, 0,5 g Ascorbinsäure, 0,01 g Coffein, 100 ml Aqua dest., p_H durch NH_3 auf 6,8 heraufgesetzt. Ich nahm ähnlich wie SCHUMACHER u. LAMBERTZ den Nachteil, mit einem Stoffgemisch zu arbeiten, in Kauf, um zunächst überhaupt zu einigermaßen sicheren Ergebnissen zu kommen.

Vom 12.—22. 7. 57 wurden 28 Einzelfütterungen mit diesem Stoffgemisch nach der Blattstückmethode durchgeführt. Material: Blätter von *Primula denticulata* und *P. veris* aus dem Freiland. Fütterungen in einer Klimakammer bei + 23° C und 10000 Lux, etwa von 10—20 Uhr, also zur Zeit des tagesperiodischen Minimums bzw. des zu erwartenden Wiederanstieges. Das Ergebnis ist in Tabelle 9 dargestellt.

Die Ergebnisse von SCHUMACHER u. LAMBERTZ konnten also wohl reproduziert werden, wenn auch festgestellt werden muß, daß 1. die erwarteten Resultate durchaus nicht immer eintraten, 2. daß die „Verbesserung" der gefütterten Blattstücke nur selten so stark wie angegeben war, und daß 3. die „Verbesserung" nicht so sehr in einer Vermehrung der Ektodesmen besteht, sondern vor allem in einer Verlängerung und erst in zweiter Linie in einer Vermehrung der Zahl. Die Änderungen werden auch hier wohl wieder in erster Linie durch einen Wechsel der Faktoren verursacht, die für die Darstellbarkeit der immer vorhandenen Strukturen verantwortlich sind.

Tabelle 9. *Fütterung im Licht (10—20 Uhr). Gemisch aus Aminosäuren, Ascorbinsäure u. a. m.*

Veränderungen der Ektodesmen	Fütterungen	
Stark verbessert	4	
Deutlich verbessert	10	+21
Schwach verbessert	7	
Keine Veränderung	3	—
Schwach verschlechtert . .	2	
Deutlich verschlechtert . .	2	−4

Schon SCHUMACHER u. LAMBERTZ erwähnen, daß man wegen der tagesrhythmischen Veränderungen der Ektodesmen mit Störungen der Versuchsergebnisse rechnen muß. Sie fanden, daß eine Fütterung besonders fördernd wirkte, wenn sie die Versuche zwischen dem tagesperiodischen Minimum und Maximum durchführten. Ähnliche Beobachtungen machte auch ich. Wenn ich beispielsweise die Blattstücke (bei einem Fütterungsbeginn ungefähr um 10 Uhr, Fixierung um 20 Uhr) nicht ins Licht brachte, sondern sie dunkel hielt, sie also in ihrem Tagesrhythmus störte, bekam ich keine klaren Ergebnisse. Die Darstellbarkeit der Ektodesmen wird dabei wohl nicht oder nur wenig beeinflußt. Dann täuschen die natürlichen Unterschiede innerhalb der Blätter Veränderungen vor, oder verschiedene Blätter reagieren unter Umständen bei solchen Bedingungen auf den Reiz verschieden. Die Wirkung einer Fütterung auf die Ektodesmen ist also von Außenfaktoren abhängig.

Durch überlange Fütterungen mit dem angegebenen Gemisch werden die Ektodesmen geschädigt. Es handelt sich hierbei um Wirkungen, die denen der Vergiftungsversuche entsprechen, zumal die Blattstücke nach längerem Liegen auf der Versuchslösung makroskopisch erkennbar fleckig werden und ihre Turgescenz abnimmt, während die Wasserkontrollen stets normal grün und turgescent bleiben. Ähnlich wie bei den Vergiftungsversuchen waren auch hier die einzelnen Blätter einer Versuchsreihe unterschiedlich resistent. Das könnte ebenfalls zu Schwankungen innerhalb einer Versuchsserie auch bei kürzerer Fütterungsdauer führen.

Die Vorgänge, die zu den Änderungen an den Ektodesmen führen, sind sicher sehr verwickelt und müssen wohl als Reizvorgänge gedeutet werden (SCHUMACHER u. LAMBERTZ 1956). Über die Art dieser Einflüsse sagt die allein von mir angewendete Methode des Ektodesmennachweises mit dem Gilsonverfahren jedoch nichts aus, auch nicht über

die eventuelle Beteiligung der Ektodesmen an der Stoffaufnahme durch die Epidermis von Blättern.

c) Histidin. SCHUMACHER u. LAMBERTZ (1956) fanden besonders in der Reaktion der Ektodesmen auf eine Fütterung mit Histidin (fördernd in sehr starker Verdünnung, schwächend in Konzentrationen von 0,01%) wichtige Beweise für die Vitalität der Strukturen. 1956 und 1957 gelang es mir nicht sicher, diese Ergebnisse in über 70 Einzelfütterungen zu reproduzieren. Eine weitere Versuchsreihe im April 1958 ließ jedoch wieder einen gewissen Einfluß erkennen.

Hier wurden an *Primula veris ssp. macrocalyx*, *P. denticulata*, *P. tommesinii* sowie *P. juliae* × *acaulis* im Freiland und in der Klimakammer

Tabelle 10. *0,00001% Histidin*

Veränderung der Ektodesmen	Fütterungen	
Stark verbessert	1	
Deutlich verbessert . . .	10	+21
Schwach verbessert . . .	10	
Keine Veränderung . . .	22	—
Schwach verschlechtert .	7	
Deutlich verschlechtert .	1	−10
Stark verschlechtert . .	2	

Tabelle 11. *0,01% Histidin*

Veränderung der Ektodesmen	Fütterungen	
Deutlich verbessert . . .	4	+9
Schwach verbessert . . .	5	
Keine Veränderung . . .	22	—
Schwach verschlechtert .	12	−23
Deutlich verschlechtert .	11	

Tabelle 12. *Versuch 1623. 0,00001% Histidin (12¹⁵ bis 21 Uhr). Blattstückmethode*

Veränderung der Ektodesmen	Fütterungen	
Stark verbessert	1	
Deutlich verbessert . . .	3	+5
Schwach verbessert . . .	1	
Keine Veränderung . . .	1	—

Tabelle 13. *Versuch 1635. 0,01% Histidin (14⁴⁵ bis 19⁴⁵ Uhr). Wattebauschmethode*

Veränderung der Ektodesmen	Fütterungen	
Keine Veränderung . . .	7	—
Schwach verschlechtert .	3	−7
Deutlich verschlechtert .	4	

bei wechselnder Fütterungsdauer 53 Einzelfütterungen mit 0,00001% Histidin und 54 Einzelfütterungen mit 0,01% Histidin teils nach der Blattstückmethode (in der Klimakammer), teils nach der Wattebauschmethode (im Freiland) durchgeführt. Die Ergebnisse sind in den Tabellen 10 und 11 dargestellt.

Trotz größerer Schwankungen ist also ein gewisser Einfluß in der von SCHUMACHER u. LAMBERTZ angegebenen Weise festzustellen. Günstiger sieht das Ergebnis aus, wenn nur die jeweils beste Versuchsserie betrachtet wird. In Tabelle 12 ist das Ergebnis des Versuches 1623 vom 8. 4. 58 dargestellt (Fütterung von 12¹⁵—21 Uhr, 0,00001% Histidin, Blattstückmethode, Klimakammer +18° C, bis 20 Uhr 7000 Lux, dann dunkel. *Primula veris ssp. macrocalyx*, 6 Einzelfütterungen). Tabelle 13 zeigt das Ergebnis des Versuches 1635 mit der höheren

Konzentration vom 9. 4. 58 (Fütterung von 14^{45}—19^{45} Uhr, 0,01% Histidin, Wattebauschmethode, im Freiland bei +7 bis +2° C, bedeckter Himmel. Fünfmal *Primula veris ssp. macrocalyx*. Neunmal *P. tommesinii* = 14 Einzelfütterungen). Aus diesem Versuch stammt die Abb. 21.

Sowohl bei der „Verbesserung" wie bei der „Verschlechterung" sind am deutlichsten und häufigsten die Längenänderungen, besonders bei Präparaten mit vielen durchgehenden Ektodesmen. Die Zahl der Struk-

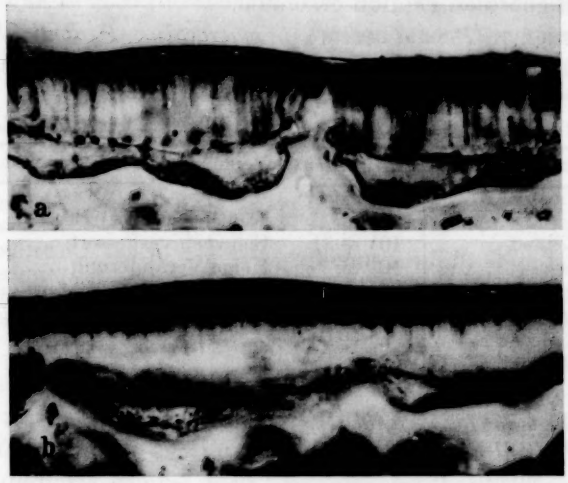


Abb. 21. Veränderung der Ektodesmen durch Aufbringen von 0,01% Histidin auf die Blattoberfläche. *a* Luftkontrolle; *b* 5 Std mit Versuchslösung behandelt. Versuch 1635. Querschnitte durch Epidermiszellen der Oberseite desselben Blattes. *Primula tommesinii*; etwa 900 ×

turen verändert sich vor allem dann, wenn die Dichte nicht sehr groß ist. Es mag besonders darauf hingewiesen werden, daß die „Verschlechterung" der Ektodesmen nach 0,01% Histidin nicht mit der Verschlechterung nach einer Vergiftung zu vergleichen ist. Während sich dort die Strukturen meistens vergröbern, ist das hier nie der Fall.

d) Ascorbinsäure + Metaphosphorsäure. FRANKE (1957) stellte fest, daß Blatthälften verschiedener Pflanzen, die nach Abdichtung der Wundränder 4—9 Std auf einer etwa 0,001% Ascorbinsäurelösung, die teilweise mit Metaphosphorsäure (2%) stabilisiert war, gegenüber den Kontrollhälften auf Wasser in der Regel in ihrem Gehalt an Vitamin C zunahmen. Die Ascorbinsäure wurde also offenbar durch die Blattoberfläche aufgenommen. FRANKE diskutiert anschließend die mögliche Beteiligung der Ektodesmen an dieser Aufnahme.

In einer Reihe von Versuchen (54 Einzelfütterungen vom 28. 6. bis 2. 7. 57, Blattstückmethode) mit Lösungen von stabilisierter Ascorbinsäure sowie reiner Metaphosphorsäure an *Primula veris ssp. macrocalyx* und *Plantago media* fand ich, daß 2% HPO_3 schon allein, ebenso wie mit Ascorbinsäure zusammen, bereits nach $2^1/_2$ Std die Ektodesmen

stark vergröbert, verkürzt und Büschelformen entstehen läßt, also toxisch wirkt. Sogar eine 0,2% HPO_3-Lösung erwies sich bei 11 Std Einwirkung als vergiftend. Der schädigende Einfluß ist auch makroskopisch an der Abnahme der Turgescenz (vgl. FRANKE 1957, S. 300) deutlich zu erkennen. Andererseits konnte der Autor Aufnahmen von Vitamin C auch ohne Stabilisierung mit HPO_3 feststellen.

Über eine Beteiligung der Ektodesmen an einer Aufnahme von Ascorbinsäure läßt sich daher zur Zeit noch nichts Genaues aussagen, wie auch überhaupt über eine Funktion der Ektodesmen als Bahnen der Stoffaufnahme. Auffallend ist, daß gerade über den Antiklinen, an Haarbasen und über Blattnerven die Ektodesmen stets besonders gut dargestellt werden können, also an Orten, die auch sonst als Stellen bevorzugter Stoffaufnahme bekannt sind (Lit. bei GESSNER 1956, S. 218).

e) Wuchsstoffe. In einer größeren Anzahl von Versuchen fütterte ich Blätter auch mit Wuchsstofflösungen. Es ist hier aus vielfachen Erfahrungen sicher, daß die relativ großen Wuchsstoffmoleküle tatsächlich durch die Epidermisaußenwände aufgenommen werden können (Lit. bei VAN OVERBEEK 1956). Die Versuche wurden im September bis November 1957 sowie im März 1958 mit insgesamt über 220 Einzelfütterungen durchgeführt.

Methodik. Die wäßrige Wuchsstofflösung (β-Indolylessigsäure-K, 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure: U 46, Handelspräparat der BASF mit 80% Wuchsstoffgehalt) wurde mit einem Pinsel auf die Blattoberfläche gestrichen (Kontrollen: unbehandelte Teile desselben Blattes) oder Blattstücke nach Abdichtung der Wundränder mit Vaseline mit der Oberseite auf die Lösung gelegt (Kontrollen: Stücke desselben Blattes auf destilliertem Wasser). Versuchsobjekte: *Primula veris ssp. macrocalyx* und *P. acaulis*. Die Konzentration der Wuchsstoffe, die Dauer der Versuche und der Zeitpunkt der Fixationen wurden mehrfach geändert, um die günstigsten Bedingungen herauszufinden.

Bei 3 Versuchsreihen mit insgesamt 15 Einzelfütterungen (in der Regel von 14—10 Uhr = 20 Std) konnte ich feststellen, daß Heteroauxin in einer 0,01 n Konzentration die Ektodesmen stets vergröbert und verkürzt, wenn die Blattstücke auf der Lösung schwimmen. Ähnliche, jedoch schwächere Erscheinungen sind schon nach 10 Std Einwirkung zu beobachten. β-Indolylessigsäure hat also auf die Ektodesmen eine toxische Wirkung, wenn es, wie bei der Blattstückmethode, in größerer Menge auf die Blattoberfläche gelangt. Eine Wachstumsreaktion konnte ich hierbei nicht beobachten.

68 Einzelfütterungen in 16 Versuchsreihen mit verschiedenen Versuchs- und Fixierungszeiten zeigten dagegen, daß Lösungen der gleichen Konzentration keinen Einfluß auf die Ektodesmen haben, wenn sie lediglich auf die Blätter aufgestrichen werden (was bedeutet, daß Wuchsstoff in gleicher Konzentration, aber in geringerer Menge auf die Blattoberfläche kommt), selbst wenn das Auftragen mehrmals wiederholt

wird. In diesen Versuchen (es wurden junge Blätter verwendet) wurde stets eine positive Wachstumsreaktion als Folge der Wuchsstoffbehandlung beobachtet. Konzentrationen unter 0,01 n Heteroauxin haben, sogar bei der Blattstückmethode, ebenfalls keinen Einfluß auf die Darstellbarkeit der Ektodesmen, auch wenn auf die Wuchsstoffbehandlung hin eine deutliche Wachstumsreaktion einsetzt. Solange also die Wuchsstoffgaben den Bereich der positiven Wachstumsreaktion nicht überschreiten, verändern sich die Ektodesmen nicht. Stärkere Dosen wirken auf die Ektodesmen toxisch.

Etwas anders wirkte die Behandlung mit Dichlorphenoxyessigsäure (U 46). Eine Reihe von Versuchen, besonders solche mit Konzentrationen unter 0,01% U 46 und mit sehr jungen Blättern ließ keinen sicheren Einfluß des Wuchsstoffes auf die Ektodesmendarstellung erkennen, auch in den Fällen nicht, in denen eine Wachstumsförderung festzustellen war. Hier bestand also Übereinstimmung mit den Ergebnissen bei Heteroauxin. Konzentrationen von 0,1 bis 0,01% wirkten dagegen sogar oft fördernd auf die Ektodesmen. Nach Aufstreichen der stärkeren Lösungen wie nach Auflegen der Blätter auf die Lösungen wurden die Ektodesmen länger und ihre Zahl nahm zu. Gleichzeitig wurde indessen bei einer Anzahl von Blättern noch eine positive Wachstumsreaktion beobachtet, d. h. auch diese starken Lösungen wirkten noch wachstumsfördernd.

Tabelle 14. *Versuch 1597. U 46 0,05% (14^{30} bis 20^{30} Uhr). Aufstreichmethode*

Veränderung der Ektodesmen	Fütterungen	
Stark verbessert	1	
Deutlich verbessert . . .	4	+7
Schwach verbessert . . .	2	
Keine Veränderung . . .	4	—
Schwach verschlechtert . .	1	−1

Als Beispiel diene Versuch 1597 vom 31. 3. 58. Insgesamt wurden 12 Blatthälften von 3 Pflanzen *Primula veris ssp. macrocalyx* mit einer 0,05% Lösung U 46 bestrichen. Die Pflanzen standen in der Klimakammer (+ 18° C, bis 20 Uhr 7000 Lux, dann dunkel). Fütterung von 14^{30}—20^{30} Uhr. Ergebnis: Tabelle 14; eine deutliche Förderung der Ektodesmen ist offensichtlich.

Die fördernde Wirkung des U 46 bleibt auch in der relativ starken Konzentration von 0,1%, sogar wenn die Blattstücke auf der Lösung schwammen, bis über 20 Std erhalten. Eine Wachstumsreaktion blieb in dieser Versuchsreihe aus, es wurden allerdings auch nur ältere Blätter hierfür verwendet.

Eine Konzentration von 2% vergiftet jedoch auch bei U 46 die Blätter (Turgorverlust) und die Ektodesmen, besonders bei der Blattstückmethode.

Erwähnenswert ist, daß ich in allen Versuchen mit Wuchsstoffen keine Beeinflussung der Wandquellbarkeit feststellen konnte.

Immer wieder beobachtete ich, daß die jüngsten Blätter natürlich am deutlichsten mit einer Wachstumsreaktion auf die Wuchsstoffbehandlung reagierten. Diese Blätter hatten aber in der Regel nur wenige und kurze Ektodesmen. Ältere Blätter, deren Wachstum nicht mehr durch eine Wuchsstoffbehandlung angeregt werden konnten, hatten dagegen meist „bessere" Ektodesmen. Andererseits ließ sich die Darstellbarkeit der Strukturen durch Dichlorphenoxyessigsäure in vielen Fällen deutlich verbessern, wobei gleichzeitig das Wachstum teils gefördert, teils nicht beeinflußt wurde. Es ist daher schwierig, etwas über die Zusammenhänge zwischen Wuchsstoffaufnahme, Wachstum und Ektodesmengestalt auszusagen. Sicher ist allein, daß dann, wenn die Wuchsstoffwirkung toxisch wird, auch die Ektodesmen betroffen werden.

f) Insecticide. Im Anschluß an die Versuche mit dem als Pflanzenschutzmittel verwendeten U 46 seien auch noch einige Ergebnisse über Wirkungen von Insecticiden, die in letzter Zeit vielfach in der Praxis angewendet wurden, mitgeteilt. Geprüft wurden im Spätsommer 1957 Metasystox (Bayer) und E 605 forte (Bayer). Diese können bekanntlich durch die Epidermisaußenwände in das Innere der Blätter eindringen.

33 Einzelfütterungen brachten das Ergebnis, daß die zur Schädlingsbekämpfung empfohlenen Konzentrationen (0,1% bei Metasystox, 0,2% bei E 605) die Darstellung der Ektodesmen nicht beeinflussen, wenn die Lösungen wie üblich auf die Blätter gesprüht (oder gestrichen) werden. Es kommt aber zu Vergröberungen, Büschelbildungen und Verkürzungen, also zu toxischen Erscheinungen, wenn die Blattstücke nach Abdichtung der Wundränder auf Lösungen gleicher Konzentration schwimmen oder diese im Wattebausch aufgetragen werden. Entscheidend für die Wirkung eines Stoffes ist also nicht nur seine Konzentration, sondern auch die dargebotene Menge, was im Verlauf der Fütterungsversuche immer wieder beobachtet wurde.

C. Diskussion

In den vorliegenden Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß die große Labilität der Ektodesmen, ihr Ansprechen auf eine Fülle von Außen- und Innenfaktoren, nur bei Anwendung der Quecksilbermethode, nicht aber mit der neu entwickelten Silbermethode in Erscheinung tritt. Neben den bisher schon bekannten Einflüssen (Tagesrhythmus, Wetterschwankungen, Vergilben der Blätter, Aminosäuren u. a. m.) verändern, wie neu gefunden wurde, auch das Welken bzw. die Wasseraufnahme gewelkter Blätter, Vergiftungen (z. B. mit HCN, CO, Äther, Tabakrauch) sowie Wuchsstoffe die Darstellbarkeit der Ektodesmen mit dem Quecksilberverfahren.

Die eingehende Untersuchung dieser Veränderungen führt nun zu dem Schluß, daß hierbei nicht die Strukturen an sich aus der Außen-

wand verschwinden bzw. neu in sie ausgestreckt werden, wie ursprünglich von LAMBERTZ (1954) sowie SCHUMACHER u. LAMBERTZ (1956) vermutet wurde, sondern daß die Verhältnisse weit verwickelter sind. Auch bei Anwendung der Quecksilbermethode wechseln die dargestellten Strukturen ja nicht nur in der Zahl, sondern ändern sich auch in ihrer Form.

Wenn man von den „Abbauerscheinungen" absieht, wie sie am besten bei vergilbenden Blättern zu beobachten sind, verschwinden nämlich die Ektodesmen bei einer Reaktion nicht von der Cuticula her, sondern es werden zuerst die dem Lumen benachbarten Teile der Struktur unsichtbar. Dieses Verschwinden, durch das also die Verbindung mit dem Binnenplasma scheinbar unterbrochen wird, pflanzt sich demnach von innen nach außen fort, bis nur noch einige Reste direkt unter der Cuticula erhalten bleiben. Umgekehrt nimmt beim Wiedererscheinen die Länge der Ektodesmen von der Cuticula her nach dem Inneren hin zu (Abb. 14, S. 680). Ebenso wie die Längenänderungen sind auch die anderen Änderungen der Form (beispielsweise Vergröberungen und Verfeinerungen) nur bei Anwendung der Quecksilbermethode zu beobachten. Ein Wechsel in der Dichte ist wohl meist Folge einer Formänderung (z. B. Verschwinden durch extreme Verkürzung, „Zusammenfließen" einzelner Strukturen zu groben „Sammelektodesmen", s. unten).

Mit der Jod-Silbermethode lassen sich dagegen die Ektodesmen auch dann noch als scheinbar unveränderte, feine, die Wand völlig durchsetzende Strukturen darstellen, wenn man mit der Quecksilbermethode nur kurze, grobe oder sogar gar keine Ektodesmen mehr nachweisen kann. Auch bei den „Abbauformen" wird offensichtlich ein „Rückzug" der Struktur aus der Außenwand nur vorgetäuscht, wenn auch hier der scheinbare Rückzug tatsächlich von außen nach innen erfolgt, sich also deutlich von den anderen Verhaltensarten unterscheidet. Sogar in diesen Stadien sind nämlich mit der Silbermethode noch durchgehende Strukturen darstellbar. In allen diesen Fällen ändert sich also nicht etwa die Struktur der Ektodesmen als Ganzes, sondern etwas in oder an der Substanz der Ektodesmen, was allein mit der Gilsonmethode zum Ausdruck gebracht werden kann.

Auch die erstmalig gelungene elektronenoptische Abbildung der Strukturen läßt es unwahrscheinlich erscheinen, daß die Ektodesmen rhizopodenartig völlig eingezogen und ausgestreckt werden können, fehlen doch, anders wie bei den Plasmodesmen, vorgebildete durchgehende Kanäle in der Außenwand. Die Ektodesmen ziehen vielmehr als feinste Fibrillenbüschel anscheinend durch die Mikrocapillaren der Cellulosewand. Sie enden unmittelbar unter der Cuticula. In der Cuticula selbst konnten über den Ektodesmen auch elektronenoptisch keine Poren oder Dünnstellen gefunden werden.

Man müßte natürlich das Wesen der Fixierungsvorgänge und der Niederschlagsbildung mit Sublimat genau kennen, um die Frage völlig beantworten zu können, was sich an den Ektodesmen ändert, wenn sie als Folge von Außeneinflüssen partiell oder in ihrem ganzen Verlauf mit der Gilsonmethode nicht mehr dargestellt werden können oder ihre Form ändern. LAMBERTZ (1954) vermutete, daß das 2wertige Quecksilber des Sublimats durch die plasmatische Substanz der Struktur reduziert wird und sich mit ihr verbindet, so daß daran zu denken wäre, daß sich eben dieses „Reduktionsvermögen" der Ektodesmen partiell oder ganz ändert.

Offenbar wird nun aber diese Fällung auch durch die Art und Weise beeinflußt, in der die Gilsonlösung in die Wand eindringt, wie ich immer wieder beobachten konnte. Mit der Sublimatmethode lassen sich die Ektodesmen nur dann nachweisen, wenn das Darstellungsmittel langsam von außen her durch die Wand dringt. Vielleicht beeinflussen also auch schon Veränderungen in der Durchlässigkeit der Cuticula, wie sie im Verlauf der Entwicklung eines Blattes sicher auftreten (KAMP 1930), die Darstellung der Strukturen mit Sublimat. Möglicherweise entstehen so die „Abbauformen" als Folge einer im Alter poröseren Cuticula; sind sie doch den Formen sehr ähnlich, die an Wundrändern durch das erleichterte Eindringen des Darstellungsmittels entstehen. Obwohl bestimmte Eigenschaften der Cuticula, z. B. ihre Benetzbarkeit, auch tagesrhythmisch zu schwanken scheinen (FOGG 1944), halte ich es allerdings für sehr unwahrscheinlich, daß die Veränderungen in der Darstellbarkeit der Ektodesmen allein durch Veränderungen der Cuticula entstehen.

Der durch die Gilsonmethode offenbar werdende Wechsel in der Beschaffenheit der Ektodesmen, der einen Formwechsel oft nur vortäuscht, wird daher sicherlich im wesentlichen durch gewisse Änderungen in oder an ihrer plasmatischen Substanz selbst entstehen. Vielleicht spielt nicht nur der Wechsel ihrer Reduktionskraft, sondern auch die Resistenz gegen die Abtötung durch die Gilsonlösung eine gewisse Rolle. In abgetöteten Zellen lassen sich die Ektodesmen ja mit Sublimat überhaupt nicht mehr nachweisen, die Reaktionsfähigkeit gegen Sublimat geht also wohl während des Abtötungsvorganges verloren.

Für die Erklärung der Entstehung der unförmig groben Strukturen nach einer Vergiftung könnte vielleicht folgendes als Arbeitshypothese dienen: In der lebenden plasmatischen Struktur ist ein sublimatreduzierendes Prinzip mehr oder weniger fest lokalisiert. Unter dem Einfluß einer Vergiftung lockert sich seine Bindung an das Plasma, die Substanz tritt in die Wand aus und vereinigt sich dort zu größeren Komplexen. Diese werden um so größer, je größer die Schädigung ist. Durch die Trennung vom Plasma verliert sie nach und nach ihre

Reduktionsfähigkeit; andererseits kann sie bei einer Erholung wieder von den Ektodesmen resorbiert oder neu gebildet werden. Die starke Vergröberung der mit Sublimat dargestellten Strukturen im Vergleich zu den Ektodesmen der Silbermethode und die förmliche „Mantelbildung" (vgl. die „Höfe" auf den elektronenoptischen Bildern, Abb. 9 und 10) deuten in diese Richtung. Auf ähnliche Weise (wenn das Fixierungsmittel gleichzeitig als „Gift" wirkt) entstehen möglicherweise auch die groben, keilförmigen Strukturen, die bei vielen Objekten sogar unter normalen Bedingungen häufig zu finden sind (Abb. 1e, f, g, S. 649).

Mit welcher Berechtigung können wir nun die Ektodesmen überhaupt für plasmatische Strukturen halten? Es ist bekannt, daß Sublimatkristalle bzw. Sublimatreduktionen auch ohne plasmatische Grundlage entstehen können. Die elektronenoptischen Abbildungen zeigen jedoch klar, daß in unseren Außenwandstrukturen nicht Produkte einer einfachen Kristallisation des Sublimats vorliegen, sondern daß die Niederschlagsbildung an einer feinen Fibrillenstruktur erfolgt. Wahrscheinlich verfälscht bzw. vergröbert allerdings die Quecksilbermethode die eigentliche plasmatische Struktur stark, wie Vergleiche mit anderen Methoden und die Beobachtungen ähnlicher Gebilde in den Innenwänden zeigen, die sicher durch das Vorhandensein von Plasmodesmen entstehen, mit diesen aber, wie von Osmiumfixierungen und Jodpyoktaninfärbungen her bekannt ist, meist nur entfernte Ähnlichkeit haben.

Es ist natürlich kein Gegenbeweis für die Plasmanatur der Ektodesmen, daß ihre Darstellung mit Osmiumtetroxyd auch elektronenoptisch bisher noch nicht gelang, da dieses Versagen vielerlei Gründe haben kann. Der Vergleich der nunmehr zur Verfügung stehenden verschiedenen anderen Darstellungsmethoden, unter denen der polarisationsoptisch gelungene Nachweis in völlig unbehandelten Zellwänden besondere Bedeutung besitzt (SCHUMACHER 1957), und die Untersuchung der mit der Quecksilbermethode faßbaren Beeinflußbarkeit der Ektodesmen durch Außen- und Innenfaktoren *lassen daher auch bei Abwägung aller Gegengründe aufs neue nur den Schluß zu, daß die Ektodesmen Organelle des Protoplasmas sind.*

Die Veränderlichkeit der Ektodesmen unter verschiedenen Außenbedingungen sowie ihre Labilität gegenüber Fixierungsmitteln ist sicher wesentlich größer als bei den Plasmodesmen (SCHUMACHER 1957). Das paßt durchaus in das Bild, das man sich von den Ektodesmen einerseits als mutmaßliche Receptoren für Außenreize und von den Plasmodesmen andererseits als mutmaßliche Reizleitungsbahnen zwischen den Zellen zur Zeit machen kann, zumal ja auch ihre Feinstruktur voneinander abweicht.

SCOTT (u. a. 1958) vermutet, daß die Ektodesmen unter anderem eine Rolle bei den Wachsausscheidungen durch die Epidermisaußenwand

spielen. Wieweit sie an der Stoffaufnahme und -abgabe durch die Epidermis generell beteiligt sind (vgl. auch VAN OVERBEEK 1956, FRANKE 1957), läßt sich jedoch vorerst noch nicht entscheiden. Die Befunde meiner Fütterungsversuche bestätigen nur in gewissem Umfang die Beobachtungen von SCHUMACHER u. LAMBERTZ (1956). Ich fand zwar im Prinzip ähnliche Veränderungen wie die genannten Autoren, doch sind die erzielten Ergebnisse keineswegs so eindeutig, daß man daraus weitgehende Schlüsse ziehen kann. Sie scheinen auch mir eher Ausdruck einer Reizwirkung auf die Ektodesmen als unmittelbare Folge einer Beteiligung an der Stoffaufnahme zu sein. Ob die Ektodesmen die eigentlichen Orte der Stoffaufnahme sind oder aber diese neben ihnen, d. h. durch die gesamte Außenfläche des Plasmas erfolgt, läßt sich noch nicht mit Sicherheit entscheiden. Die Ergebnisse der Welkeversuche könnten, entgegen der Auffassung von HÄRTEL (1956) vielleicht doch auf eine Mitwirkung der Ektodesmen bei der cuticulären Transpiration bzw. Wasseraufnahme deuten.

Alle Aussagen über die spezielle Funktion der Ektodesmen sind daher vorerst noch sehr hypothetisch, da ja die Darstellungsmöglichkeit mit unseren Mitteln nicht unbedingt mit der Funktion zusammenzuhängen braucht. Hier ist noch vieles ungeklärt und ein weites Feld für weitere Versuche.

Sicher ist nur das eine, daß diese merkwürdigen Organelle, mit denen das Protoplasma durch die Außenwand hindurch fast unmittelbaren Konnex mit der Außenwelt besitzt, ungemein empfindliche Gebilde sind, die durch eine Fülle von Faktoren gewisse, nur mit der Gilsonmethode sichtbar werdende Veränderungen erfahren und ein Abbild der außerordentlichen Sensibilität des Lebendigen schlechthin darstellen.

Zusammenfassung

1. Ektodesmen werden mit der üblichen sublimathaltigen Gilsonlösung nur dargestellt, wenn das Fixierungsmittel langsam von außen her durch die Epidermisaußenwand, nicht aber vom Wundrand oder von innen her eindringt. Die Fixierungstemperatur muß zwischen $+10$ und $+45^0$ C liegen.

2. Es wurde gezeigt, daß Ektodesmen nicht nur mit Sublimat, sondern auch mit einer Silbermethode und einigen anderen Verfahren dargestellt werden können. Unter günstigen Umständen findet man in Epidermiszellen von Primelblättern etwa 30 Ektodesmen auf 100 μ^2 oder 900 Ektodesmen pro Zelle.

3. Elektronenmikroskopische Untersuchungen ergaben, daß die Ektodesmen im Gegensatz zu den Plasmodesmen nicht in gröberen Kanälen, sondern als feine Fibrillenbüschel in den Mikrocapillaren der Zellwand

verlaufen. Über den Ektodesmen hat die Cuticula keine Poren und wahrscheinlich auch keine Dünnstellen.

4. Der Nachweis der Ektodesmen mit der Sublimatmethode ist vom Lebenszustand der Pflanze abhängig; die Sublimatstrukturen können sich nicht nur in ihrer Zahl, sondern auch in ihrer Form (Länge, Feinheit, Stellung zueinander usw.) verändern.

5. In frostharten Blättern werden die Ektodesmen durch leichtes Frieren reversibel geschädigt, sie regenerieren beim Auftauen in weniger als einer Minute. Starkes Frieren und starke Hitze schädigt sie sofort irreversibel, so daß sie mit der Sublimatmethode nicht mehr dargestellt werden können.

6. Starkes Welken schädigt die Ektodesmen, bei alten Blättern mehr als bei jungen. Durch das Welken entstehen in jungen Blättern Verkürzungs-, in alten Abbauformen. Die abermalige Wasseraufnahme gewelkter Blätter fördert die Darstellbarkeit der Ektodesmen wieder.

7. Gifte und Narkotica (HCN, Äther, CO_2 konzentriert, CO, Leuchtgas, stärkere Dosen von Tabakrauch) schädigen die Ektodesmen, bei schwacher Vergiftung mit HCN reversibel. Stickstoff- und Sauerstoffatmosphäre beeinflussen die Ektodesmen wahrscheinlich nicht.

8. Die Befunde von SCHUMACHER u. LAMBERTZ (1956) über eine Beeinflussung der Ektodesmen durch auf die Blattoberfläche aufgetragene gelöste Stoffe (Aminosäuren u. a. m.) wurden im wesentlichen reproduziert, doch sind diese Wirkungen recht „launenhaft".

9. Durch 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure (0,1—0,01% U 46) ließ sich die Darstellbarkeit der Ektodesmen positiv beeinflussen. Heteroauxin zeigte keine Wirkung. Ein Zusammenhang zwischen der Wachstumsreaktion und der Darstellbarkeit der Ektodesmen konnte nicht gefunden werden.

10. Die Insecticide E 605 und Metasystox haben bei den in der Praxis angewendeten Konzentrationen keine Wirkung auf die Ektodesmen.

11. Alle Änderungen im Auftreten und in der Form der Ektodesmen können nur mit sublimathaltigen Fixierungsmitteln nachgewiesen werden. Mit der Silbermethode bleiben die Strukturen scheinbar unverändert erhalten. Daraus muß geschlossen werden, daß die Ektodesmen nicht rhizopodenartig eingezogen und ausgestreckt werden, sondern daß sich unter dem Einfluß von Außen- und Innenfaktoren nur ein Zustand, vielleicht das Reduktionsvermögen gegenüber Hg^{++} ändert.

12. Die Ektodesmen werden als plasmatische Strukturen in den Epidermisaußenwänden angesehen, deren Feinbau zwar noch in vielem ungeklärt ist, die sich aber von den Plasmodesmen in verschiedener Hinsicht deutlich unterscheiden.

Literatur

Asunmaa, S.: Electron microscope studies on sections of aspen sulfite pulp fibres. Svensk Papperstidning **58**, 33—34 (1955). — Böhmer, H.: Untersuchungen über das Wachstum und den Feinbau der Zellwände in der *Avena*-Koleoptile. Planta (Berl.) **50**, 461—497 (1958). — Fogg, G. E.: Diurnal fluctuations in a physical property of leaf cuticle. Nature (Lond.) **154**, 515 (1944). — Franke, W.: Ein Beitrag zur Nährstoffaufnahme durch Blätter. Vortr. auf dem Kongr. der Dtsch. Bot. Ges. in Heidelberg 1957. Ber. dtsch. bot. Ges. **70**, 297—304 (1957). — Gessner, F.: Wasseraufnahme durch Blätter und Samen. In Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. III, S. 215—246. Berlin 1956. — Härtel, O.: Über Permeabilitätseigenschaften der pflanzlichen Kutikula. Protoplasma **46**, 301—316 (1956). — Hassenkamp, G., u. W. Liese: Elektronenmikroskopische Beobachtungen über das Vorkommen von Plasmodesmen in Zellwänden. Exp. Cell Res. **13**, 165—167 (1957). — Henkel, P. A.: The adaptive significance of dormancy in plants. Internat. Bot. Kongr., Stockholm, 1950. — Hodge, A. J., E. M. Martin and R. K. Morton: The structure of some cytoplasmatic components of plant cells in relation to the biochemical properties of isolated particles. J. biophys. biochem. Cytol. **3**, 61—70 (1957). — Huber, B., E. Kinder, E. Obermüller u. H. Ziegenspeck: Spaltöffnungs-Dünnstschnitte im Elektronenmikroskop. Protoplasma **46**, 380—393 (1956). — Johansen, D. A.: Plant Microtechnique. New York 1940. — Kamp, H.: Untersuchungen über Kutikularbau und kutikuläre Transpiration. Jb. wiss. Bot. **72**, 403—512 (1930). — Küster, E.: Die Pflanzenzelle, 3. Aufl. Jena 1956. — Kuhla, F.: Die Plasmaverbindungen bei *Viscum album*. Bot. Ztg **58**, 29—58 (1900). — Lambertz, P.: Untersuchungen über das Vorkommen von Plasmodesmen in den Epidermisaußenwänden. Planta (Berl.) **44**, 147—190 (1954). — Laubert, R.: Untersuchungen von pflanzlichen Zellmembranen auf eine Durchlöcherung mittels Protoplasma, einschließlich einiger Untersuchungen strittiger Fälle über den Nachweis von Protoplasmaverbindungen. Diss. Göttingen 1897. — Meeuse, A. D. J.: Plasmodesmata (Vegetable Kingdom). In Protoplasmatologia, Handbuch der Protoplasmaforschung, Bd. II A 1 c. Wien 1957. — Meyer, A.: Über die Methoden zur Nachweisung der Plasmaverbindungen. Ber. dtsch. bot. Ges. **15**, 166—177 (1897). — Mothes, K.: Zur Kenntnis des N-Stoffwechsels höherer Pflanzen. 3. Beitrag (unter besonderer Berücksichtigung des Blattalters und des Wasserhaushaltes). Planta (Berl.) **12**, 686—731 (1931). — Mühldorf, A.: Das plasmatische Wesen der pflanzlichen Zellbrücken. Beih. bot. Zbl. **56**, 171—364 (1937). — Mühlethaler, K.: Untersuchungen über die Struktur und Entwicklung der Proplastiden. Protoplasma **45**, 264—279 (1956). — Overbeek, J. van: Absorption and translocation of plant regulators. Ann. Rev. Plant Physiol. **7**, 355—372 (1956). — Pfeiffer-Wellheim, F.: Über ein Silberimprägnierungsverfahren zur Darstellung der Plasmodesmen in einigen Endospermgeweben und bei Moosblättchen. Z. wiss. Mikr. **41**, 325—344 (1924). — Pisek, A., u. E. Berger: Kutikuläre Transpiration und Trockenresistenz isolierter Blätter und Sprosse. Planta (Berl.) **28**, 124—155 (1938). — Romeis, B.: Mikroskopische Technik, 15. Aufl. München 1948. — Schäfer, G.: Über die Wirkung von Stoffwechselfaktoren auf den Plasma-Wand-Kontakt in den Wurzeln von *Lemna minor*. Flora (Jena) **143**, 327—355 (1956). — Über Veränderungen des mechanischen und biologischen Kontaktes von Plasma und Zellwand in subplasmolytischen Konzentrationen von Anelektrolyten. Planta (Berl.) **51**, 414—439 (1958). — Schmucker, T.: Über den Einfluß narkotischer Stoffe auf Transpiration und Wasserleitung. Jb. wiss. Bot. **68**, 771—800 (1928). — Schumacher, W.: Über plasmodesmenartige Strukturen in den Epidermisaußenwänden. Jb. wiss. Bot. **90**, 530—545 (1942). — Weitere Beobachtungen über das Welken ephemerer Blüten. Planta (Berl.) **42**,

42—55 (1953). — Über Ektodesmen und Plasmodesmen. Vortr. auf dem Kongr. der Dtsch. Bot. Ges. in Heidelberg 1957. Ber. dtsch. bot. Ges. **70**, 336—342 (1957). Schumacher, W., u. W. Halbsguth: Über den Anschluß einiger höherer Parasiten an die Siebröhren der Wirtspflanzen. Jb. wiss. Bot. **87**, 324—355 (1939). — Schumacher, W., u. P. Lambertz: Über die Beziehungen zwischen der Stoffaufnahme durch Blattepidermen und der Zahl der Plasmodesmen in den Außenwänden. Planta (Berl.) **47**, 47—52 (1956). — Scott, F. M.: Cystoliths and plasmodesmata in *Beloperone*, *Ficus* and *Boehmeria*. Bot. Gaz. **107**, 372—377 (1946). — Plasmodesmata in xylem vessels. Bot. Gaz. **110**, 492—495 (1949). — Internal suberization of tissues. Bot. Gaz. **111**, 378—394 (1951). — Scott, F. M., K. C. Hamner, E. Baker and E. Bowler: Electron microscope studies of the epidermis of *Allium cepa*. Amer. J. Bot. **45**, 449—460 (1958). — Scott, F. M., M. R. Schroeder and F. M. Turell: Development, cell shape, suberization of itnernal surface, and abscision in the leaf of the Valencia orange, *Citrus sinensis*. Bot. Gaz. **109**, 381 bis 411 (1948). — Sitte, P.: Die Ultrastruktur von Wurzelmeristemzellen der Erbse *(Pisum sativum)*. Protoplasma **49**, 447—522 (1958). — Strasburger, E.: Über Plasmaverbindungen pflanzlicher Zellen. Jb. wiss. Bot. **36**, 493—610 (1901). — Strugger, S.: Der elektronenmikroskopische Nachweis von Plasmodesmen mit Hilfe der Uranylimprägnierung an Wurzelmeristemen. Protoplasma **48**, 231—236 (1957a). — Elektronenmikroskopische Beobachtungen an den Plasmodesmen des Urmeristems der Wurzelspitze von *Allium cepa:* ein Beitrag zur Kritik der Fixation und zur Beurteilung elektronenmikroskopischer Größenangaben. Protoplasma **48**, 365—367 (1957b). — Wardrop, A. B.: Mechanism of surface growth in perenchyma of *Avena* coleoptiles. Aust. J. Bot. **3**, 137—148 (1955). — Weiss, G.: Über Schollen- und Kristallaggregatbildung im extraplasmatischen Raum vitalgefärbter Zellen. Protoplasma **48**, 72—94 (1957). — Willenbrink, J.: Über die Hemmung des Stofftransports in den Siebröhren durch lokale Inaktivierung verschiedener Atmungsenzyme. Planta (Berl.) **48**, 269—342 (1957). — Ziegler, H.: Elektronenmikroskopische Untersuchung von symbiontischen Bakterien aus höheren Pflanzen. Z. Naturforsch. **13b**, 297—301 (1958).

Dr. Eberhard Schnepf, Marburg a. d. Lahn,
Botanisches Institut der Universität, Pilgrimstein 4

Autorenverzeichnis des 52. Bandes

Clauss, H., Über quantitative Veränderungen der Chloroplasten- und cytoplasmatischen Proteine in kernlosen Teilen von *Acetabularia mediterranea*. S. 334

— Das Verhalten der Phosphorylase in kernhaltigen und kernlosen Teilen von *Acetabularia mediterranea*. S. 534

— und K. Keck, Über die löslichen Kohlenhydrate der Grünalge *Acetabularia mediterranea* und deren quantitative Veränderungen in kernhaltigen und kernlosen Teilen. S. 543

Forstmann, E. s. Reinert, J. S. 623

Guttenberg, H. von, und H. Leike, Untersuchungen über den Wuchs- und Hemmstoffgehalt ruhender und treibender Knospen von Syringa vulgaris L. S. 96

— s. Pankow, H. S. 629

Haccius, B., und W. Schneider, Untersuchungen zur Stadienspezifität des teratogenen Effektes der 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure bei Galium aparine. S. 206

Hämmerling, Ch. s. Hämmerling, J. S. 516

— J. und Ch., Kernaktivität bei aufgehobener Photosynthese. S. 516

Heber, U., Ursachen der Frostresistenz bei Winterweizen. I. Mitteilung. Die Bedeutung der Zucker für die Frostresistenz. S. 144

— Ursachen der Frostresistenz bei Winterweizen. II. Mitteilung. Die Bedeutung von Aminosäuren und Peptiden für die Frostresistenz. S. 431

Hess, D., Über die Papierchromatographie von Flechtenstoffen. S. 65

Jeremias, K., Über den Jahresgang einiger Zucker in den Blättern von Hedera helix L. S. 195

Keck, K., s. Clauss, H. S. 543

Kiermayer, O., Induktion von Eingeschlechtlichkeit, sowie Gamophyllie an Blüten durch 2,3,5-Trijodbenzoesäure. S. 393

— s. Linser, H., und E. Yousseff. S. 173

Leike, H. s. Guttenberg, H. v. S. 96

Linser, H., O. Kiekmayer und E. Yousseff, Der Wuchsstoffgehalt verschiedener Brassica-Pflanzen in Abhängigkeit von ihrem Entwicklungszustand. S. 173

Lockhart, J. A., The role of gibberellin in the control of pea growth by temperature. S. 250

Mitrakos, K., Tagesperiodische Schwankungen der Fähigkeit zur Chlorophyllbildung. Kurze Mitteilung. S. 583

Morgan, D. G., und H. Söding, Über die Wirkungsweise von Phthalsäuremono-α-Naphthylamid (PNA) auf das Wachstum der Haferkoleoptile. S. 235

Mosebach †, G., Zur Phototaxis von Mougeotia (Mesocarpus). Mit einem Nachwort von W. Haupt. S. 3

Napp-Zinn, K., Vernalisation und Thermoperiodismus. Kurze Mitteilung. S. 229

Pankow, H., und H. v. Guttenberg, Studien über die Anlage der Achselknospen und Blattprimordien bei Gramineen. S. 629

Poelt, J., Eine Basidiolichene in den Hochalpen. S. 600

Pringsheim, E. G., Über Mixotrophie bei Flagellaten. S. 405

Reinert, J., und E. Forstmann, Untersuchungen über das Auxin der Maiskoleoptile. S. 623

Resch, A., Weitere Untersuchungen über das Phloem von Vicia faba. S. 121

— Über Leptombündel und isolierte Siebröhren sowie deren Korrelationen zu den übrigen Leitungsbahnen in der Sproßachse. I. Teil. S. 467

Resch, A., Über Leptombündel und isolierte Siebröhren sowie deren Korrelationen zu den übrigen Leitungsbahnen in der Sproßachse. S. 490

Richter, G., Das Verhalten der Plastidenpigmente in kernlosen Zellen und Teilstücken von Acetabularia mediterranea. S. 259

— Die Auslösung kerninduzierter Regeneration bei gealterten kernlosen Zellteilen von *Acetabularia* und ihre Auswirkungen auf die Synthese von Ribonucleinsäure und Cytoplasmaproteinen. S. 554

Sander, H., Über Photoperiodismus und Thermoperiodismus der Blütenentwicklung im Zusammenhang mit dem Tomatingehalt bei einigen Lycopersicon-Arten. S. 447

Schneider, W. s. Haccius, B. S. 206

Schiemann, E., Beobachtungen an einem subfertilen Fragaria-Klon. S. 77

Schleuss, G., Über die Fruchtentwicklung der Gattung Dorstenia, insbesondere über ihren Turgescenz-Schleudermechanismus. S. 276

Schmid, R., Über die Struktur und Teilung der Kerne von Geotrichum candidum und Geotrichum magnusii. S. 320

Schnepf, E., Untersuchungen über Darstellung und Bau der Ektodesmen und ihre Beeinflußbarkeit durch stoffliche Faktoren. S. 644

Schötz, F., Periodische Ausbleichungserscheinungen des Laubes bei Oenothera. S. 351

Schumacher, W., Zum 80. Geburtstag von Professor Dr. Dr. h. c. Wilhelm Ruhland am 7. August 1958. S. 1

Söding, H. s. Morgan, D. G. S. 235

Tschermak-Woess, E., Extreme Anisogamie und ein bemerkenswerter Fall der Geschlechtsbestimmung bei einer neuen *Chlamydomonas*-Art. S. 606

Urban, R., Physiologische Untersuchungen über einige Flavonoide und Oxyzimtsäuren. I. Auswahl und Identifizierung der bearbeiteten Stoffkomponenten. S. 47

— Physiologische Untersuchungen über einige Flavonoide und Oxyzimtsäuren. II. Mitteilung. Untersuchungen über den jahreszeitlichen und tagesperiodischen Verlauf der Stoffbildung. S. 565

Werz, G., Weitere Untersuchungen zum Problem der Kernaktivität bei gesenktem Zellstoffwechsel. S. 528

Winter, E., Bildung eines roten Farbstoffes in verletztem Pflanzengewebe. S. 187

Yousseff, E. s. Linser, H., und O. Kiermayer. S. 173

Ziegler, H., Über die Zusammensetzung des „Bestäubungstropfens" und den Mechanismus seiner Sekretion. S. 587